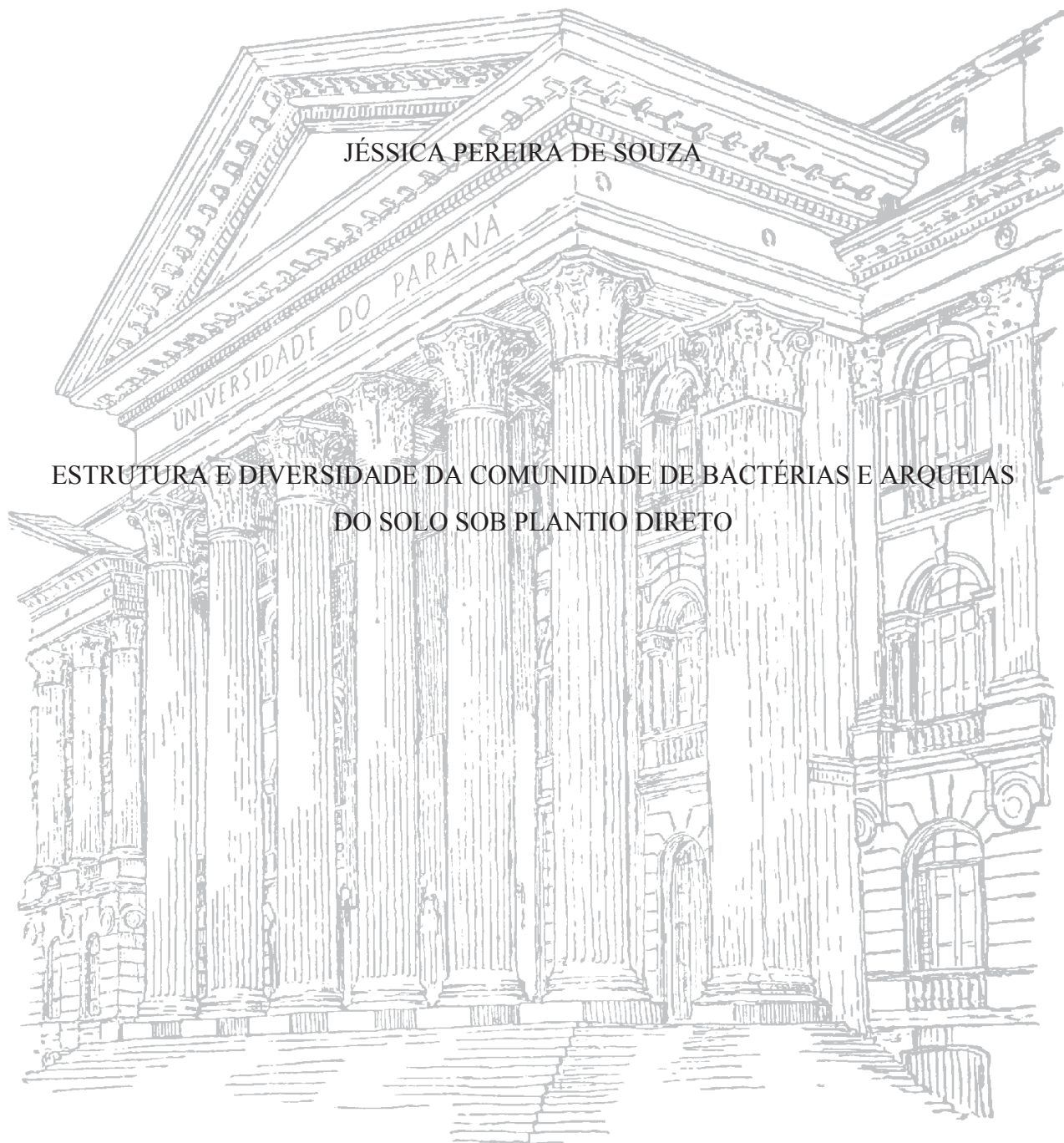


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JÉSSICA PEREIRA DE SOUZA

ESTRUTURA E DIVERSIDADE DA COMUNIDADE DE BACTÉRIAS E ARQUEIAS
DO SOLO SOB PLANTIO DIRETO



CURITIBA

2018

JÉSSICA PEREIRA DE SOUZA

ESTRUTURA E DIVERSIDADE DA COMUNIDADE DE BACTÉRIAS E ARQUEIAS
DO SOLO SOB PLANTIO DIRETO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração Solo e Ambiente, do Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Fabiane Machado Vezzani

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Glaciela Kaschuk

Co-orientador: Prof. Dr. Emanuel Maltempi de Souza

CURITIBA

2018

Souza, Jéssica Pereira de
S729 Estrutura e diversidade da comunidade de bactérias e arqueias
do solo sob plantio direto / Jéssica Pereira de Souza. – Curitiba,
2018.
xii, 87 f. : il., grafs., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Fabiane Machado Vezzani
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná.
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em
Ciência do Solo.

1. Microbiologia do solo. 2. Plantio direto. 3. Solos - Manejo.
I. Vezzani, Fabiane Machado. II. Universidade Federal do Paraná.
Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência
do Solo. III. Título.

CDU 631.461



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS DO SOLO

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS DO SOLO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **JESSICA PEREIRA DE SOUZA** intitulada: **Estrutura e diversidade da comunidade de bactérias e arqueas do solo sob plantio direto**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 22 de Fevereiro de 2018.

FABIANE MACHADO VEZZANI

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

GLACIELA KASCHUK

Avaliador Interno (UFPR)

EDUARDO BALSANELLI

Avaliador Externo (UFPR)

EMANUEL MALTEMPI DE SOUZA

Avaliador Externo (UFPR)

Aos meus pais, Ademir e Neusa, minhas irmãs Silmaria, Milene e Jeslane e a minhas
sobrinhas Débora e Vitória, dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela perfeita e complexa criação, pela vida plena, saúde e possibilidade de estudar um dos processos do sistema solo.

Aos meus pais, Ademir e Neusa, minhas irmãs Silmaria, Milene e Jeslane e a minhas sobrinhas Débora e Vitória, pelo apoio, amor, confiança, por entender que a saudade foi o preço pago para realizar um sonho.

Aos pesquisadores Leandro Bortolon e Elisandra Bortolon que desde a graduação me apoiam e incentivam a fazer pesquisa, por mostrar que tudo vale a pena quando se faz com amor, quando se faz o que gosta; pelo tempo e conhecimento compartilhado, por serem referências profissional e pessoal.

À minha orientadora Fabiane Vezzani que me mostrou outras formas de estudar e interpretar os processos que ocorrem no solo, pelo amor em ensinar, pelo sorriso com as minhas conquistas, apoio e incentivo com as minhas derrotas. Obrigada por me orientar, guiar; pela dedicação, pela amizade e paciência; e pela oportunidade de trabalharmos juntas. A minha Gratidão!

À minha co-orientadora Glaciela Kaschuk pela orientação, incentivo, confiança, paciência, pela amizade; pelo seu jeito divertido de ensinar e pela oportunidade de trabalharmos juntas. A minha Gratidão!

Ao Dr. Eduardo Balsanelli por me ensinar a técnica de extração do DNA total do solo e por realizar o sequenciamento e a análise de bioinformática das sequências de DNA; pela paciência e tempo disponibilizado.

Ao Dr. Emanuel Maltempi de Souza pela parceria e pelas contribuições para esse trabalho.

À Fundação Agrisus pelo apoio financeiro para realização das análises.

À Fundação ABC, em nome do Pesquisador Rudimar Molin, por conduzir o experimento de sistemas agrícolas há 29 anos e por ceder a área experimental para esse estudo.

Aos técnicos de campo, Mauro e Danilo da Fundação ABC, pelo auxílio nas coletas de solo.

À EMBRAPA, em nome do pesquisador Leandro Bortolon, pela parceria e por ceder a área experimental para esse estudo.

À Universidade Federal do Paraná, ao Departamento de Solos e Engenharia Agrícola e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pela estrutura e oportunidade em cursar o mestrado em Ciência do Solo.

Aos professores Marcelo, Vander, Fabiane, Glaciela, Jeferson, Eloana, Walmes e André por contribuírem para a minha formação profissional assim como as funcionárias Fabiana, Josiane, Maria, Carla pelo auxílio nas análises laboratoriais; e a querida secretária, Denise.

Ao Grupo de Qualidade do Solo (Raphael, Tatiana, Elaine, Etienne, Kayo, Gustavo, Selma, Fabiane, Glaciela) pelas discussões semanais sobre os diversos temas que abrangem a qualidade do solo, pelas contribuições para esse trabalho.

À minha amiga Tatiana, um presente do mestrado, pelos auxílios em laboratório, por deixar as longas jornadas de laboratório mais divertida, por ser minha motorista particular para realizar as coletas, pela paciência nos dias mais complicados. Obrigada pelo apoio e amizade.

À minha velha, grande, amiga - Jéssica - (a outra) pela parceria e paciência; pela amizade ao longo desses 11 anos. Às minhas amigas Aline e Etienne que juntas formamos um grande grupo (Tatiana, Jéssica, Aline e Etienne) para sorrir e chorar. Obrigada por deixarem o fardo mais leve, pelas brincadeiras, pelo apoio, pela amizade que será um presente do mestrado.

À minha amiga Pamella Cristina pelo apoio, pela amizade.

Aos colegas Kim, Leandro Zambon, Juliane pela ajuda nas coletas e nas análises de laboratório e ao Gustavo pela revisão do abstrat.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo pelas contribuições diárias para esse trabalho, pelas discussões em sala de aula que edificaram.

A todos, muito obrigada!

RESUMO GERAL

A cobertura vegetal, a calagem e a riqueza de espécies vegetais agrícolas são práticas importantes para a condução do sistema de plantio direto, pois agem sobre a dinâmica do carbono e temperatura e umidade do solo. Esses fatores regulam e selecionam as populações de bactérias e arqueias. O objetivo geral dessa dissertação foi analisar a estrutura e diversidade da comunidade de bactérias e arqueias do solo em plantio direto sob diferentes manejos de culturas. O primeiro estudo apresenta a ação da riqueza de espécies vegetais agrícolas ao longo do tempo e da planta em desenvolvimento na estrutura e na diversidade da comunidade de bactérias e arqueias do solo sob plantio direto para analisar o efeito da rotação de culturas sobre a atividade biológica e a funcionalidade do solo nessas áreas agrícolas. As análises foram feitas em amostra de solo sob plantio direto há 27 anos, no município de Ponta Grossa-PR, dos tratamentos de sucessão de trigo-soja e rotação de ervilhaca-milho-trigo-soja, durante o período de desenvolvimento do trigo em pré-colheita e da soja em florescimento. Os atributos avaliados foram: estrutura, riqueza e a diversidade da comunidade de bactérias e arqueias; carbono e nitrogênio da biomassa microbiana; carbono orgânico; respiração microbiana; quociente metabólico e microbiano; e diversidade metabólica. A estrutura da comunidade de bactérias e arqueias do solo foi determinada a partir da amplificação e sequenciamento da região V4 do gene 16SrRNA do DNA total do solo. A riqueza de espécies vegetais agrícolas ao longo do tempo não alterou a comunidade de bactérias e arqueias do solo sob plantio direto. A planta foi o fator que modulou a comunidade de bactérias e arqueias do solo, pois as amostragens feitas no período de desenvolvimento do trigo em pré-colheita revelaram maior diversidade de gêneros de bactérias e arqueias, bem como, maior potencial da ciclagem de nutrientes, determinada por meio dos teores de respiração microbiana e da mineralização do nitrogênio. O segundo estudo teve como objetivo relacionar a adição de carbono via resíduo da planta de cobertura e a calagem com a estrutura e a diversidade da comunidade de bactérias do solo, que garantem funções distintas ao sistema. As amostras de solo foram coletadas na área experimental da fazenda da Universidade Federal do Tocantins, no município de Gurupi – TO, no período de florescimento da soja. O delineamento experimental considerou as plantas de cobertura (*Panicum maximum* cv. Mombaça (alta adição de C) e *Pennisetum americanum* cv. ADR 300 (baixa adição de C) como as parcelas principais e a adição ou não de calcário como subparcelas. Os atributos avaliados foram: estrutura, riqueza e a diversidade da comunidade de bactérias; carbono e nitrogênio da biomassa microbiana; carbono orgânico total; respiração microbiana; quociente metabólico e microbiano; diversidade metabólica do solo; propriedades químicas do solo; e atributos de raízes. A estrutura da comunidade de bactérias foi identificada após amplificação e sequenciamento da região V4 do gene 16SrRNA do DNA total. O gênero *Bacillus* foi considerado indicativo do solo sob cobertura de *P. americanum* cv. ADR 300 (milheto) e o *Bradyrhizobium* e *Rhodoplanes* sob *P. maximum* cv. Mombaça. Em relação à calagem, independentemente da planta de cobertura, o solo que recebeu calcário teve maior abundância dos seguintes gêneros: *Catellatospora*, *Nitrospira*, *Balneimonas*, *Pedomicrobium*, *Nocardioides*, *Pirullula*. E o solo sem aplicação de calcário os gêneros mais abundantes foram o *Burkholderia*, *Saccharopolyspora* e *Candidatus Xiphinematobacter*. Os diferentes ambientes e sistemas de culturas em plantio direto atuaram de forma distinta na estrutura e na diversidade da comunidade de bactérias. O manejo alterou a estrutura da comunidade de bactérias e arqueia, a diversidade (Capítulo 1) e a riqueza de gêneros de bactérias e arqueias (Capítulo 2). E por fim, as alterações na comunidade microbiana refletem na funcionalidade

do sistema, tais como, aumento da produtividade e da ciclagem de nutrientes, essas últimas analisadas por meio da respiração microbiana e nitrogênio mineralizável.

Palavras-chave: 16SrRNA. *Glycine max*. *Triticum aestivum*. *Panicum maximum* cv. Mombaça. *Pennisetum americanum* cv. ADR 300. Microbioma.

GENERAL ABSTRACT

Plant cover, liming and richness of agricultural plant species are important practices for managing no-tillage systems, as they act on carbon dynamics and on soil temperature and humidity. These factors regulate and select populations of bacteria and archaea. The general aimed of this thesis was to analyze the structure and diversity of bacteria and archaea community of no-tillage soils under different crop managements. The first study presents the response of the richness of agricultural plant species over time and of the developing plant on the structure and diversity of bacteria and archaea community of no-tillage soil to analyze the effect of crop rotation on biological activity and soil functionality in these agricultural areas. The analyzes were carried out in soil samples, collected in a 27-year experiment under no-tillage in the city of Ponta Grossa-PR, Brazil for treatments of wheat-soybean and vetch-corn-wheat-soybean before wheat harvesting and at soybean flowering. The structure of soil bacteria and archaea community was determined from the amplification and sequencing of the V4 region of the 16SrDNA gene of total soil DNA. The richness of agricultural plant species over time did not alter the community of bacteria and soil archea under no-tillage. The plant was the factor that modulated the community of soil bacteria and archaea, as samples taken before wheat harvesting revealed a greater diversity of bacteria and archaea genera, as well as a greater potential for nutrient cycling, determined by means of microbial respiration levels and nitrogen mineralization. The second study aimed to relate carbon addition via plant cover residue and liming, practices necessary for the cultivation of the soil in Brazilian Cerrado, with the structure and diversity of soil bacteria and archaea community, which guarantee different functions to the system. Soil samples were collected in a experimental area located at the farm of the Federal University of Tocantins, in Gurupi - TO, Brazil, during the period of soybean flowering. The experimental design consisted of cover plants (*Panicum maximum* cv. Mombaça (high C addition) and *Pennisetum americanum* cv. ADR 300 (low C addition) as the main plots and the addition or not of lime as the subplots. The structure of bacteria and archaea community was identified after amplification and sequencing the V4 region of the 16SrDNA gene of the total DNA. The genus *Bacillus* was considered indicative of the soil under *P. americanum* cv. ADR 300 (millet) and *Bradyrhizobium* and *Rhodoplanes* under *P maximum* cv. Mombaça. In relation to liming, independently of the cover plant, the soil that received lime had greater abundance of *Catellatospora*, *Nitrospira*, *Balneimonas*, *Pedomicrobium*, *Nocardioides*, *Pirullula*. And the soil without limes application the most abundant genera were *Burkholderia*, *Saccharopolyspora* and *Candidatus Xiphinematobacter*. Different crop managements work differently in the structure and diversity of the bacteria and archaea community. The management can alter structure of the bacterial and archaea, diversity (Chapter 1) and the richness of bacterial and archaeal genera (Chapter 2). Finally, changes in the microbial community reflect on the functionality of the system, such as increased productivity and nutrient cycling, the latter analyzed through microbial respiration and mineralizable nitrogen.

Key words: 16SrDNA. *Glycine max*. *Triticum aestivum*. *Panicum maximum* cv. Mombaça. *Pennisetum americanum* cv. ADR 300. diversity indexes. metabolic diversity.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	13
LITERATURA CITADA.....	15
CAPÍTULO 1. AÇÃO DA RIQUEZA DE ESPÉCIES VEGETAIS AGRÍCOLAS AO LONGO DO TEMPO EM PLANTIO DIRETO NA COMUNIDADE DE BACTÉRIAS E ARQUEIAS DO SOLO.....	18
RESUMO	18
ABSTRACT.....	20
1.1. INTRODUÇÃO.....	21
1.2. MATERIAL E MÉTODOS	22
1.2.1 Área, delineamento experimental e amostragem	22
1.2.2. Análises experimentais.....	24
1.2.2.1. Análise química do solo	24
1.2.3.2. Atributos de biomassa e atividade microbiana.....	24
1.2.2.3. Diversidade metabólica	26
1.2.2.4. Extração e sequenciamento do 16 S rDNA	27
1.2.5. Análises estatísticas.....	28
1.3. RESULTADOS	28
1.4. DISCUSSÃO.....	34
1.4.1. Existe relação entre a riqueza de espécies vegetais agrícolas ao longo do tempo com a estrutura e a diversidade da comunidade de bactérias e arqueias do solo?	34
1.4.2. A dinâmica da entrada de carbono via raízes altera a estrutura da comunidade de bactérias e arqueias?.....	35
1.4.3. Alterações na estrutura e na diversidade da comunidade de bactérias e arqueias interferem no sistema solo?	39
1.5. CONCLUSÕES.....	40
1.6. LITERATURA CITADA	41
1.7. MATERIAL SUPLEMENTAR	49

CAPÍTULO 2. ESTRUTURA E DIVERSIDADE DA COMUNIDADE DE BACTÉRIAS DO SOLO SOB CULTIVO DE SOJA NO CERRADO BRASILEIRO.	54
RESUMO.....	54
ABSTRACT.....	55
2.1. INTRODUÇÃO.....	56
2.2. MATERIAL E MÉTODOS	58
2.2.1. Área, delineamento experimental.....	58
2.2.2. Amostragem do solo	59
2.2.3. Coleta de raízes	59
2.2.4. Análises e determinações	60
2.2.5. Análises Estatísticas	63
2.3. RESULTADOS	64
2.4. DISCUSSÃO.....	71
2.4.1. Ação da planta de cobertura sobre os atributos do solo e a comunidade de bactérias do solo	71
2.4.2. Ação da calagem sobre os atributos do solo e a comunidade de bactérias do solo	73
2.5. CONCLUSÕES.....	74
2.6. LITERATURA CITADA	74
2.7. MATERIAL SUPLEMENTAR.....	82
CONCLUSÃO GERAL	84
REFERÊNCIAS	85
APÊNDICES	106

INTRODUÇÃO GERAL

O sistema de plantio direto (SPD) é recomendado para a produção agrícola sustentável de grãos no Brasil (Loss et al., 2014; Bayer et al., 2016; Ferreira et al., 2016). Na safra de 2013/2014, 86 % do plantio de grãos foi realizado nesse sistema (MAPA/CONAB, 2014). Porém, a maioria das lavouras não tem aplicado as quatro técnicas fundamentais do sistema plantio direto em conjunto, que são o revolvimento mínimo, a permanência de cobertura vegetal morta, a rotação de culturas (Hobbs et al., 2008) e a construção de terraços. A inobservância das técnicas fundamentais do sistema de plantio direto resulta em altos índices de degradação dos solos no Brasil. Já a aplicação das mesmas traz resultados satisfatórios, como aumento da produtividade de grãos (McDaniel e Grandy, 2016), maior supressão a patógenos de solo (Campos et al., 2016), melhorias na estrutura física do solo (Six et al., 2004; Sá et al., 2013), aumento do estoque de carbono orgânico (Ferreira et al., 2016) e de carbono (C) e nitrogênio (N) da biomassa microbiana (McDaniel e Grandy, 2016).

A produção de resíduos vegetais em quantidades suficientes para a sua permanência sobre o solo ao longo do tempo garante a proteção do solo contra o impacto da gota da chuva, reduz a temperatura do solo na camada de 0 a 0,30 m (Kader et al., 2017), e as oscilações de temperatura (Da Silva et al., 2006), e, ainda, diminui a evaporação e o escoamento superficial (Merten et al., 2015). De maneira bem clara, a cobertura vegetal contribui para a conservação do solo já que diminui o risco à erosão, melhora a eficiência do uso da água, diminui a taxa de decomposição do resíduo vegetal, e por sua vez, promove a seleção de microrganismos que tem crescimento ótimo nessas condições ambientais.

A rotação de culturas é a técnica de manejo de culturas que proporciona a riqueza de espécies vegetais agrícolas em um local definido ao longo do tempo. Com a rotação de culturas, os compostos orgânicos que entram no sistema são diversificados, pois as plantas diferem em composição orgânica (Turner et al., 2013), depositam exsudatos radiculares no interior do solo ou resíduos vegetais diferenciados na superfície, agindo sobre dois nichos edáficos, a rizosfera e a detritosfera, respectivamente (Beare et al., 1995). O composto orgânico que entra no solo tende a selecionar as populações de microrganismos que são adaptadas a decompor esse composto. Além disso, as plantas podem liberar compostos específicos para selecionar microrganismos que são benéficos ao seu desenvolvimento (Mendes et al., 2014). Logo, a literatura indica que a composição orgânica do solo resultante

de uma comunidade de plantas pode modular a estrutura e a diversidade da microbiota edáfica, e por sua vez, pode trazer alterações na funcionalidade do solo (Trivedi et al., 2015).

Os compostos orgânicos, além de serem substratos para a atividade microbiana, atuam juntamente com a matéria orgânica particulada, constituída por resíduos vegetais e animais adicionados ao solo em início de decomposição (Oades, 1984), na união das partículas minerais por meio das interações organominerais (Tisdall e Oades, 1982) e formam microagregados estáveis, os quais são definidos por agregados de tamanho até 0,250 mm (Tisdall e Oades, 1982; Beare et al., 1995; Six et al., 1998; Kennedy, 1999). Estruturas mais complexas e diversificadas, caracterizadas por macroagregados, são formadas pelo enovelamento de partículas simples e microagregados, resultantes da ação mecânica durante o crescimento das raízes e das hifas de fungos rizosféricos (Tisdall e Oades, 1982; Lupwayi et al., 2001; Vezzani e Mielniczuk, 2011). Logo, as raízes são fundamentais para a formação de macroagregados estáveis. Existem relatos de que a estrutura microbiana difere entre os macro e microagregados do solo, pois características abióticas dessas estruturas são diferentes (Blaud et al., 2012; Davinic et al., 2012; Bach et al., 2018), por isso a estrutura do solo pode favorecer a diversidade microbiana.

O manejo do solo altera as condições ambientais do ecossistema. Essa alteração pode modificar a comunidade microbiana, que é sensível a elevadas concentrações de CO₂, fertilização mineral, mudanças de temperatura, alteração de carbono (Allison e Martiny, 2008). Diante das mudanças ambientais, a comunidade microbiana pode ser resistente, o que implica que, mesmo com o estresse, ela permanece inalterada; e/ou resiliente, após o estresse a comunidade volta a composição (ou função) original; e/ou redundante, vários táxons da comunidade exercem a mesma função ecossistêmica, com isso, as alterações na comunidade microbiana não alteram a funcionalidade do sistema solo (Allison e Martiny, 2008). Diante do constante manejo dos solos agrícolas e da instabilidade do sistema, a diversidade microbiana é importante para que o solo tenha resiliência funcional (Zilli et al., 2003), principalmente quando ocorrem estresses ambientais, garantindo a manutenção das funções do sistema solo (Mendes et al., 2015) tais como, ciclagem de nutrientes e agregação do solo (Zilli et al., 2003).

A observância das técnicas fundamentais do sistema de plantio direto produz condições ambientais favoráveis ao crescimento microbiano. A rotação de culturas diversifica os nichos edáficos ao longo do tempo contribuindo para a alteração na estrutura e na

diversidade da comunidade de bactérias e arqueias, por meio da diversificação dos compostos orgânicos oriundos das plantas e da variabilidade estrutural. Portanto, o objetivo dessa dissertação foi analisar a estrutura e a diversidade da comunidade de bactérias e arqueias do solo em plantio direto sob diferentes sistemas de cultura. O primeiro estudo teve o objetivo de analisar a ação da riqueza de espécies vegetais agrícolas ao longo do tempo e da planta em desenvolvimento na estrutura e na diversidade da comunidade de bactérias e arqueias do solo sob sistema plantio direto, e analisar o efeito da rotação de culturas sobre a atividade biológica e a funcionalidade do solo nessas áreas agrícolas. E o segundo estudo mostra como a adição de carbono via resíduo da planta de cobertura e a calagem podem afetar a estrutura e a diversidade da comunidade de bactérias do solo.

LITERATURA CITADA

- Allison SD, Martiny JBH. Colloquium paper: resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105 Suppl:11512–9.
- Bach EM, Williams RJ, Hargreaves SK, Yang F, Hofmockel KS. Greatest soil microbial diversity found in micro-habitats. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier; 2018;118:217–226.
- Bayer C, Gomes J, Zanatta JA, Vieira FCB, Dieckow J. Mitigating greenhouse gas emissions from a subtropical Ultisol by using long-term no-tillage in combination with legume cover crops. *Soil Tillage Research*. 2016;161:86–94.
- Beare M, Coleman D, Hendrix PF, Odum EP. A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling. *Plant Soil*. 1995;170:5–22.
- Blaud A, Lerch TZ, Chevallier T, Nunan N, Chenu C, Brauman A. Dynamics of bacterial communities in relation to soil aggregate formation during the decomposition of ¹³C-labelled rice straw. *Applied Soil Ecology*. Elsevier B.V.; 2012;53:1–9.
- Campos SB, Lisboa BB, Camargo FAO, Bayer C, Sczyrba A, Dirksen P, Albersmeier A, Kalinowski J, Beneduzi A, Costa PB, Passaglia LMP, Vargas LK, Wendisch VF. Soil suppressiveness and its relations with the microbial community in a Brazilian subtropical agroecosystem under different management systems. *Soil Biology & Biochemistry*. 2016;96:191–197.
- Da Silva VR, Reichert JM, Reinert DJ. Variação na temperatura do solo em três sistemas de manejo na cultura do feijão. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*. 2006;30:391–399.

- Davinic M, Fultz LM, Acosta-Martinez V, Calderón FJ, Cox SB, Dowd SE, Allen VG, Zak JC, Moore-Kucera J. Pyrosequencing and mid-infrared spectroscopy reveal distinct aggregate stratification of soil bacterial communities and organic matter composition. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2012;46:63–72.
- Ferreira A de O, Amado T, Rice CW, Diaz DAR, Keller C, Inagaki TM. Can no-till grain production restore soil organic carbon to levels natural grass in a subtropical Oxisol? *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Elsevier B.V.; 2016;229:13–20.
- Hobbs PR, Sayre K, Gupta R. The role of conservation agriculture in sustainable agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. 2008;363:543–555.
- Kader MA, Senge M, Mojid MA, Nakamura K. Mulching type-induced soil moisture and temperature regimes and water use efficiency of soybean under rain-fed condition in central Japan. *International Soil and Water Conservation Research*. Elsevier B.V.; 2017;5:302–308.
- Kennedy AC. Bacterial diversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 1999;74:65–76.
- Loss A, Costa EM, Pereira MG, Beutler SJ. Agregação, matéria orgânica leve e carbono mineralizável em agregados do solo. *Revista de la facultad de agronomía, La Plata*. 2014;113:1–8.
- Lupwayi NZ, Arshad MA, Rice WA, Clayton GW. Bacterial diversity in water-stable aggregates of soils under conventional and zero tillage management. *Appl Soil Ecology*. 2001;16:251–261.
- McDaniel MD, Grandy AS. Soil microbial biomass and function are altered by 12 years of crop rotation. *SOIL Discuss*. 2016;1–39.
- Mendes LW, Kuramae EE, Navarrete AA, van Veen JA, Tsai SM. Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. *ISME Journal*. 2014;8:1577–1587.
- Mendes LW, Tsai SM, Navarrete AA, De Hollander M, Van Veen JA, Kuramae EE. Soil-Borne Microbiome: Linking Diversity to Function. *Microbial Ecology*. 2015;255–265.
- Merten GH, Araújo AG, Biscaia RCM, Barbosa GMC, Conte O. No-till surface runoff and soil losses in southern Brazil. *Soil Tillage Research*. Elsevier B.V.; 2015;152:85–93.
- Oades JM. Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management. *Plant Soil*. 1984;76:319–337.
- Sá JC de M, Ségué L, Tivet F, Lal R, Bouzinac S, Borszowski PR, Briedis C, Burkner J, Hartman C, Bertoloni CG, Rosa J. Carbon depletion by plowing and its restoration by No-Till

cropping systems in Oxisols of subtropical and tropical agro-ecoregions in Brazil. *L Degrad Dev*. 2013;543:531–543

Six J, Bossuyt H, Degryze S, Denef K. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil Tillage Research*. 2004;79:7–31.

Six J, Elliott ET, Paustian K, Doran JW. Aggregation and Soil Organic Matter Accumulation in Cultivated and Native Grassland Soils. *Soil Science Society of America Journal*. 1998;62:1367.

Tisdall JM, Oades JM. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Soil Science Society of America Journal*. 1982;33:141–163.

Trivedi P, Rochester IJ, Trivedi C, Van Nostrand JD, Zhou J, Karunaratne S, Anderson IC, Singh BK. Soil aggregate size mediates the impacts of cropping regimes on soil carbon and microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2015;91:169–181.

Turner TR, Ramakrishnan K, Walshaw J, Heavens D, Alston M, Swarbreck D, Osbourn A, Grant A, Poole PS. Comparative metatranscriptomics reveals kingdom level changes in the rhizosphere microbiome of plants. *ISME Journal*. Nature Publishing Group; 2013;7:2248–2258.

Vezzani FM, Mielniczuk J. Agregação e estoque de carbono em argissolo submetido a diferentes práticas de manejo agrícola. *Revista Brasileira Ciência do Solo*. 2011;35:213–223.

Zilli JÉ, Rumjanek NG, Ribeiro Xavier G, da Costa Coutinho HL, Prata Neves MC. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*. 2003;20:391–411.

CAPÍTULO 1. AÇÃO DA RIQUEZA DE ESPÉCIES VEGETAIS AGRÍCOLAS AO LONGO DO TEMPO EM PLANTIO DIRETO NA COMUNIDADE DE BACTÉRIAS E ARQUEIAS DO SOLO

RESUMO

As populações microbianas edáficas são selecionadas pela composição orgânica do sistema solo, que é resultado da adição de carbono via planta, pelos resíduos vegetais, tecido radicular ou liberação de compostos orgânicos radiculares. A composição orgânica varia conforme a espécie da planta e a fase de desenvolvimento da mesma. O objetivo desse estudo foi identificar a ação da riqueza de espécies vegetais agrícolas ao longo do tempo e da planta em desenvolvimento na estrutura e diversidade da comunidade de bactérias e arqueias do solo sob plantio direto, e analisar o efeito da rotação de culturas sobre a atividade biológica e a funcionalidade do solo nessas áreas agrícolas. O estudo foi realizado no Centro de Experimentação para Assistência e Divulgação Técnica Agropecuária da Fundação ABC, município de Ponta Grossa-PR. Os tratamentos foram: Trigo-Soja (sucessão) e Ervilhaca-Milho-Trigo-Soja (rotação), com amostragens do solo feitas em dois períodos, no cultivo de trigo em pré-colheita e da soja em florescimento, na profundidade de 5 a 15 cm, na entre linha da planta. Os atributos avaliados foram: estrutura, riqueza e diversidade da comunidade de bactérias e arqueias; carbono e nitrogênio da biomassa microbiana; carbono orgânico total do solo; respiração microbiana; quociente metabólico e microbiano; e diversidade metabólica do solo. A estrutura, a riqueza taxonômica e a diversidade da comunidade de bactérias e arqueias do solo foram obtidas a partir da amplificação e sequenciamento da região V4 do gene 16SrRNA do DNA total do solo. O efeito da riqueza de espécies vegetais agrícolas (sistemas) e da planta na estrutura da comunidade de bactérias e arqueias foi verificado com a análise PERMANOVA. O teste IndVal foi utilizado para identificar os gêneros ou um conjunto de gêneros indicativos de cada tratamento. A riqueza de espécies vegetais agrícolas ao longo do tempo ($p = 0,234$) não alterou a comunidade de bactérias e arqueias do solo sob sistema de plantio direto. Entretanto, a planta ($p = 0,001$) modulou a comunidade de bactérias e arqueias do solo. Os gêneros *Candidatus Nitrososphaera*, *Catellatospora*, *Devosia*, *Dokdonella*, *Geodermatophilus*, *Hyphomicrobium*, *Kaistobacter*, *Methylibium*, *Mycobacterium*, *Nitrospira*, *Nocardioideis*, *Pseudonocardia*, *Rhizobium* e *Streptomyces* foram indicativos do trigo em pré-colheita. Os gêneros *Candidatus Xiphinematobacter*, *Candidatus Koribacter*, *Rhodoplanes*, e *DA101* foram indicativos da soja em florescimento. As mudanças na estrutura

e na diversidade das comunidades de bactérias e arqueias provavelmente foram em função da diversificação da composição orgânica do solo. A cultura individualmente foi responsável por modular a comunidade de bactérias e arqueias em solos de plantio direto de longo prazo e não a riqueza de culturas ao longo do tempo. Neste sentido, reafirma-se a importância do cultivo diversificado em longo prazo (rotação), pois cada cultura em desenvolvimento pode afetar a ecologia do solo, que resulta na funcionalidade do sistema como um todo, sendo exemplos a ciclagem de carbono e nitrogênio.

Palavra-chave: Agricultura subtropical. Índices de diversidade. Diversidade metabólica. *Streptomyces*. *Rhizobium*. 16SrRNA. Microbioma.

CHAPTER 1. RESPONSE OF SOIL BACTERIA AND ARCHAEA COMMUNITIES TO LONG-TERM CROP RICHNESS IN A NO-TILLAGE EXPERIMENT

ABSTRACT

The soil microbial populations are selected by the organic composition the soil system, which is the result of the addition of carbon via plant, plant residues, root tissue or release of organic root compounds. This carbon is introduced to the system mainly via plant, plant residues, root tissue or via the release of organic root compounds. The composition organic varies according to the plant specie and growth stage. This study aimed is identify the response of the structure and diversity of bacteria and archaea community to long-term crop richness in relation to the growing crop in no-tillage experiment to analyze the effect of crop rotation on biological activity and soil functionality in these agricultural areas. Long-term experimental plots were located in Ponta Grossa, Brazil considering crop systems of wheat-soybean and vetch-corn-wheat-soybean. Soil samples were collected from 0.05 to 0.15 m depth in two moments: before wheat harvesting and at soybean flowering. The evaluated attributes were: structure, richness and diversity of the community of bacteria and archaea; carbon and nitrogen from microbial biomass; total soil organic carbon; microbial respiration; metabolic and microbial quotient; and soil metabolic diversity. The structure and diversity of soil bacteria and archaea community were analyzed by extracting the DNA and sequencing the V4 region of the 16SrRNA gene. Permutational multivariate analysis of variance was performed to determine changes in the structure of bacteria and archaea community due to crop richness (crop systems) and to growing crop. Distinct genus or group of genera from each season were assessed by the IndVal test. Although the crop richness ($p=0.234$) over time did not modify the bacteria and archaea community in no-tillage soil, the growing crop ($p=0.001$) modulated the soil microbiome. Indicative genera before winter harvesting were: *Candidatus Nitrososphaera*, *Catellatospora*, *Devosia*, *Dokdonella*, *Geodermatophilus*, *Hyphomicrobium*, *Kaistobacter*, *Methylibium*, *Mycobacterium*, *Nitrospira*, *Nocardioides*, *Pseudonocardia*, *Rhizobium* and *Streptomyces*; during soybean flowering: *Candidatus Xiphinematobacter*, *Candidatus Koribacter*, *Rhodoplanes* and *DA101*. The changes in the structure and diversity of the bacterial and archaea communities probably were due to the diversification of the organic composition of the soil. The individual culture was responsible for modulating the community of bacteria and archaea in long-term no-tillage soils and not the richness of crops over time. In this sense, the importance of diversified long-term cultivation (rotation) is reaffirmed, since each growing crop can affect soil ecology, which results in the functionality of the system as a whole, examples being carbon and nitrogen cycling.

Key words: subtropical agriculture. diversity indexes. metabolic diversity. *Streptomyces*. *Rhizobium*. 16SrRNA.

1.1. INTRODUÇÃO

O solo é um sistema termodinamicamente aberto, em que há entrada de resíduos das plantas e compostos orgânicos exsudatos pelas raízes e saída de compostos orgânicos, que são os subprodutos da atividade biológica (Addiscott, 2010; Vezzani e Mielniczuk, 2009). A entrada de carbono lábil e nutrientes no sistema solo estimula a atividade metabólica da microbiota do solo (Gupta e Germida, 2015; Kuzyakov e Blagodatskaya, 2015) e, em um mesmo tipo de solo, tende selecionar diferentes microrganismos (Gupta e Germida, 2015). Os principais fatores que influenciam a atividade microbiana são a morte das raízes e a composição dos exsudatos das raízes e dos microrganismos durante o processo de decomposição dos resíduos vegetais (Kuzyakov e Blagodatskaya, 2015). Por isso, a planta em desenvolvimento é provavelmente o fator com maior poder coercivo sobre os atributos biológicos do solo.

Alguns estudos da comunidade microbiana do solo mostram que a rizosfera tem uma comunidade de bactérias diferente daquela do solo livre (Mendes et al., 2014; Hartman et al., 2018) provavelmente em função do crescimento das raízes e da composição dos exsudatos radiculares (Remenant et al., 2009; Sasse et al., 2018; Gupta e Germida, 2015). Na verdade, estudos recentes têm mostrado que a comunidade microbiana da rizosfera sofre alterações com o tipo de solo (Iannucci et al., 2017), de acordo com o clima (Cao et al., 2016), com a espécie presente (Chen et al., 2016; Benitez et al., 2017), com a fase de desenvolvimento da planta (Chaparro et al., 2014; Sugiyama et al., 2014; Salvo et al., 2018) e em função da interação entre raiz e microrganismo (Kuzmicheva et al., 2017).

Um sistema rico em espécies vegetais gera uma diversidade de compostos orgânicos exsudatos ao longo do tempo, com potencial de modificar a atividade metabólica da microbiota edáfica (Beare et al., 1995; Grayston et al., 2001; Vezzani e Mielniczuk, 2009). Os compostos orgânicos podem ser protegidos dentro dos microagregados do solo (Schmidt et al., 2011) e, posteriormente, consumidos pela microbiota, imprimindo, assim, o efeito do histórico das plantas sobre a composição orgânica do solo. Além disso, sistemas agrícolas com maior riqueza de espécies vegetais ao longo do tempo (rotação de cultura) em plantio direto aumentam a produção de matéria vegetal, o estoque de carbono orgânico do solo, melhoram a estrutura edáfica e trazem benefícios para a produtividade (Zak et al., 2003; Vezzani e Mielniczuk, 2011; Sá et al., 2013; Ferreira et al., 2016; Kiani et al., 2017); além de promoverem a melhor sanidade das plantas (Campos et al., 2016). Portanto, a rotação de

culturas e o plantio direto convergem como práticas indissociáveis de sustentabilidade da agricultura moderna.

Apesar da constatação do aumento da biomassa microbiana do solo em sistemas de rotação de culturas em clima temperado (McDaniel e Tiemann, 2014; McDaniel et al., 2014; Kiani et al., 2017), e do forte apelo teórico de que sistemas com maior riqueza de plantas ao longo tempo (i.e. rotação de culturas versus sucessão) seriam associados com uma maior biomassa, atividade e diversidade de microrganismos do solo, e por isso, trariam maior crescimento vegetal, um levantamento bibliográfico sobre o aspecto quantitativo da biomassa microbiana em diferentes sistemas de rotação de culturas no Brasil não discriminou diferenças expressivas entre os sistemas de rotação e sucessão de culturas (Balota et al., 2004; Franchini et al., 2007; Hungria et al., 2009; Silva et al., 2010). Além disso, os poucos trabalhos sobre a estrutura e a diversidade da comunidade de microrganismos no solo em sistema de rotação de culturas mostraram diferenças muito mais expressivas, devido ao preparo do solo e à aplicação de insumos (principalmente pesticidas e fertilizantes sintéticos) do que ao sistema de maior riqueza de espécies vegetais (Li et al., 2012; Souza et al., 2013). Entretanto, os resultados mencionados não elucidaram totalmente a questão. Um dos aspectos que pode ser responsável pela semelhança da estrutura e diversidade da comunidade de bactérias em diferentes sistemas de culturas é a planta em desenvolvimento no momento da amostragem, pois ela é quem rege a entrada de compostos orgânicos (Vezzani et al., 2018). Isso significa que é preciso um delineamento específico para distinguir os efeitos da riqueza de espécies vegetais daqueles promovidos pela cultura e seu referido estágio fenológico presente no momento da coleta. Portanto, o objetivo desse trabalho foi identificar a ação da riqueza de espécies vegetais agrícolas ao longo do tempo e da planta em desenvolvimento na estrutura e na diversidade da comunidade de bactérias e arqueias do solo sob sistema plantio direto, e analisar o efeito da rotação de culturas sobre a atividade biológica e a funcionalidade do solo nessas áreas agrícolas.

1.2. MATERIAL E MÉTODOS

1.2.1 Área, delineamento experimental e amostragem

O estudo foi realizado no Centro de Experimentação para Assistência e Divulgação Técnica Agropecuária da Fundação ABC, município de Ponta Grossa, Paraná, nas coordenadas 25°00'35" S e 50°09'16" N, sobre a altitude 890 m. O clima da região é

classificado como subtropical úmido, mesotérmico, do tipo Cfb (Alvares et al., 2013). A classificação do solo, segundo Classificação Brasileira de Solos é Latossolo Vermelho Distrófico típico, A moderado, com declividade plana a suave ondulada (Winck et al., 2014). A textura é argilosa (449 g de areia kg^{-1} de solo, 101 g de silte kg^{-1} de solo e 450 g de argila kg^{-1} de solo) e os minerais predominantes na fração argila são, em ordem de predominância, a caulinita e a hematita (Winck et al., 2014). As principais propriedades químicas do solo no período de cultivo do trigo em pré-colheita eram: pH em $\text{CaCl}_2 = 4,5$; $\text{Al} = 0,17 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{H}+\text{Al} = 7,3 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Ca} = 2,2 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{Mg} = 1,6 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$; $\text{P} = 26,8 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{K} = 100,1 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Cu} = 0,51 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Zn} = 4,00 \text{ mg dm}^{-3}$; $\text{Mn} = 10,20 \text{ mg dm}^{-3}$.

O experimento foi implantado no inverno de 1989 (27 anos de duração no período de coleta) em sistema de plantio direto, sob delineamento blocos ao acaso, com quatro repetições e parcelas de 147 m^2 ($21 \times 7 \text{ m}$). O estudo foi realizado com dois tratamentos: o primeiro com baixa riqueza de espécies = sucessão (cultivo de trigo-soja) e o segundo, com uma riqueza maior de espécies = rotação (ervilhaca-milho-trigo-soja).

As coletas de solo foram realizadas durante o cultivo de trigo e soja. O trigo (*Triticum aestivum* cv. Supera) foi semeado no dia 10/06/2016, com espaçamento entre plantas de $0,17 \times 0,17$ metros. No plantio foi realizada a adubação com 250 kg ha^{-1} da formulação 14-34-00 (N-P-K) aplicados no sulco e 100 kg ha^{-1} de KCl aplicado a lanço. No dia 8/7/2016, foram aplicados 250 kg ha^{-1} de ureia a lanço. A coleta foi realizada no dia 28/10/2016, e o trigo estava em fase de pré-colheita.

O plantio da soja (*Glycine max* cv. M 5917IPRO) foi realizado no dia 15/11/2016, com espaçamento entre plantas de 40×40 centímetros. Durante a semeadura foi aplicado 400 kg ha^{-1} da formulação 00-20-20 (N-P-K) no sulco e, no dia 18/11/2016 foi aplicado 50 kg ha^{-1} KCl aplicados a lanço em cobertura. A coleta de solo foi realizada no dia 18/01/2017, e a soja estava em pleno florescimento.

As amostras de solo foram compostas por 20 subamostras em cada parcela, na profundidade de 5-15 cm no meio da entre linha de plantio com auxílio do trado calador. Após a coleta foram homogeneizadas, acondicionadas em sacos plásticos, transportadas em caixa térmica e armazenadas. Uma fração de cada amostra composta foi peneirada em malha de 1 mm, congelada a -80°C e, posteriormente, realizada a extração de DNA. E a outra fração foi peneirada em malha de 2 mm e armazenadas em ambiente refrigerado a 4°C até o momento das análises (Figura suplementar 2 – esquema ilustrativo da amostragem do solo).

1.2.2. Análises experimentais

1.2.2.1. Análise química do solo

O carbono orgânico total (COT) e o nitrogênio total (NT) foram determinados por combustão seca em analisador elementar CHNOS (Elementar, Vario El III).

1.2.3.2. Atributos de biomassa e atividade microbiana

Os extratos contendo carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (C-BM e N-BM) foram obtidos, respectivamente, pelo método de fumigação-extração de Vance et al. (1987) e Brookes et al. (1985), com as modificações propostas por Franchini et al. (2007). O C-BM e N-BM foram extraídos de 20 g de solo. A extração foi realizada com 50 mL da solução de K_2SO_4 0,5 Mol L^{-1} . As amostras (solo+ K_2SO_4) foram agitado por 60 min em 175 rpm, posteriormente foram transferidas para tubos plásticos (tubo falcon), e centrifugadas por 10 minutos em torno de 2500 rpm. Em seguida o extrato foi filtrado em papel qualitativo. O C presente no extrato foi oxidado com Mn^{3+} . A solução oxidante foi preparada adicionando-se 100 mL de água destilada em um balão volumétrico de 250 mL e, posteriormente, foi colocado em ordem: 75 mL de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 Mol L^{-1} , 11,5 mL de H_2SO_4 0,5 Mol L^{-1} , 5,0 mL de KMnO_4 0,1 Mol L^{-1} e 20 mL de MnSO_4 0,1 Mol L^{-1} e completado o volume com água destilada. O balão volumétrico foi agitado constantemente. A solução oxidante apresentou coloração rosa-violeta e pH de 4,3.

Uma alíquota de 0,5 mL do extrato foi pipetado em um tubo de vidro e adicionou-se 0,5 mL de solução extratora, 1 mL de solução oxidante e 1 mL de H_2SO_4 concentrado. O tubo foi agitado manualmente e aguardou-se 16 horas para determinar o teor de C-BM. Foi realizado a curva com diferentes concentrações de carbono. A fonte de carbono utilizada foi o ácido oxálico. Os pontos da curva foram: 0, 20, 40, 60, 80 e 120 mg L^{-1} . Após 16 horas foi realizada a leitura da curva em comprimento de onda de 495 nm no espectrofotômetro (Shimadzu, UVmini-1240, Inc, Kyoto, Japan) e, posteriormente, foram determinados os teores de C-BM das amostras (Bartlett e Ross, 1988). A determinação de C foi realizada em triplicata.

A determinação de N-BM foi realizada utilizando 20 mL do extrato original. O extrato foi pipetado em tubo de digestão com 1,5 mL de H_2SO_4 concentrado e 3 g de catalisador ($\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$, 10:1) para acelerar a digestão. Posteriormente, os tubos foram colocados no digestor em temperatura inicial de 100 °C. A digestão dos compostos nitrogenados foi

finalizada quando o bloco atingiu 350 °C, temperatura necessária para transformar os compostos nitrogenados em NH_4^+ . Nesse momento a cor do extrato mudou de preta para azul, e o bloco permaneceu ligado por 30 min após atingir 350 °C para fixar a cor. Após desligar o bloco digestor foi necessário aguardar alguns minutos para reduzir a temperatura do extrato e, posteriormente, foram realizadas diluições. Na primeira diluição, foram adicionados 30 mL de água destilada no tubo de digestão; na segunda diluição, uma alíquota de 1 mL foi transferida para tubos de ensaio e adicionados 9 mL de água destilada. Após homogeneizar, uma alíquota de 2 mL foi transferida para tubo de ensaio e foram adicionados 7 mL solução A (Solução A: 5,0 g de NaOH e 30 mL da solução de Na_2 - EDTA pH 10,0 e em volume de 2000 mL com água destilada), 1 mL de solução B (Solução B: 10 g de fenol cristal – PA, $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$, 0,5g de $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ em volume de 1000 mL com água destilada) e 1 mL solução C (Solução C: 5,0 g de NaOH, 9,4 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, 31,8 g de $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$, 20,0 mL de NaOCl 4-6% em volume de 1000mL com água destilada) e agitado rapidamente. Formou-se uma coloração azul (azul de indofeno) resultado da reação de NH_4^+ com NaOCl e $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$ em meio alcalino. Foi realizada a curva com diferentes concentrações de nitrogênio. A fonte de nitrogênio utilizada foi $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ e os pontos da curva foram: 0, 2, 4, 6, 8 mg L^{-1} . Após 2 horas foi realizada a leitura da curva em comprimento de onda de 630 nm no espectrofotômetro (Shimadzu, UVmini-1240, Inc, Kyoto, Japan) e, posteriormente, foram determinados os teores de N-BM das amostras (Feije e Raiva, 1972).

Os valores de C-BM e N-BM foram estimados a partir das diferenças entre as amostras fumigadas e não fumigadas, empregando os coeficientes de 0,41 no cálculo de C-BM (Anderson e Domsch, 1978) e de 0,54 no de N-BM (Brookes et al., 1985).

A respiração microbiana (RM) foi determinada pelo método de Anderson (1982). Amostras de 50 g de solo úmido foram incubadas a 25 ± 1 °C no escuro por 8 dias na presença de um recipiente contendo NaOH 0,5 mol L^{-1} que captura as moléculas de CO_2 , posteriormente foi adicionado 3 mL de BaCl_2 30 %, e duas gotas de fenolfetaleína e titulado com HCl 0,25 mol L^{-1} . Os valores de RM foram expressos em $\mu\text{g C-CO}_2 \text{ g solo seco}^{-1} \text{ h}^{-1}$. O quociente metabólico foi obtido pela razão entre RM e C-BM ($\mu\text{g C g}^{-1}$ de solo), e expresso em $\mu\text{g C-CO}_2 \mu\text{g C-BM}^{-1} \text{ h}^{-1}$. O quociente microbiano foi expresso em % obtido pela equação abaixo:

$$q\text{MIC} = (\text{C-BM} / \text{COT}) / 10,$$

O N mineralizável (N min) do solo foi extraído com solução de KCl 2 mol L⁻¹ de 10 g de solo úmido. O N-NO₃ foi analisado pelo método de ultravioleta com adição de Zn adaptado de Heinzmann et al. (1984) e Norman e Stucki (1981) e o N-NH₄ pelo método do Fenato (adaptado de APHA, 1995). O nitrogênio total foi considerado a soma das duas frações (N-NO₃ e N-NH₄) antes e depois da incubação do solo a 25±1 °C no escuro por 8 dias. Os valores de N min foram obtidos pela diferença de N total antes e depois da incubação e expressos em µg N g⁻¹ de solo.

Todos os resultados foram corrigidos conforme o conteúdo de umidade gravitacional, que foi determinado paralelamente a cada procedimento.

1.2.2.3. Diversidade metabólica

A atividade metabólica edáfica foi obtida por meio do crescimento de uma suspensão de microrganismos extraída do solo em meio de cultura líquido com fontes variáveis de C, na presença do indicador cloreto 2,3,5- trifenil tetrazólio, seguindo o princípio da metodologia proposta por Bochner et al. (2001). A suspensão dos microrganismos foi extraída de 10 g de solo úmido. A solução extratora foi 90 mL de NaCl 0,145 mol L⁻¹ esterilizada, agitação (200 rpm) por 30 min e decantação por 10 minutos. O meio de cultura líquido foi produzido conforme Parkinson et al. (1971) e continha por litro: 1,0 g de K₂HPO₄, 0,2 g de MgSO₄.7H₂O, 1,0 g de CaCl₂.H₂O, 0,1 g de NaCl, 0,5 g de KNO₃, 0,5 g de asparagina e fontes variáveis de C. As fontes variáveis de C foram dois aminoácidos (L – alanina, L – arginina), quatro carboidratos (L – arabinose, D – fructose, D – galactose, D – glicose) e cinco ácidos orgânicos (ácido málico, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido alfa-cetoglutárico e ácido tartárico), nas respectivas concentrações: 15 mmol L⁻¹ de aminoácidos, 75 mmol L⁻¹ de carboidrato, e 100 mmol L⁻¹ de ácido orgânicos (Stevenson et al., 2004). As soluções dos meios de cultura tiveram pH ajustado entre 5,8-6,0 com NaOH 1 mol L⁻¹ ou HCl mol L⁻¹, e foram todas autoclavadas antes do uso.

A incubação foi feita em microplacas contendo em cada poço 100 µL de meio de cultura líquido com a fonte variável de C, 100 µL de solução de 2,3,5- trifenil tetrazólio 0,1 % (concentração final) e 100 µL da suspensão de microrganismos extraída do solo. Foram considerados como controle positivo os poços com a suspensão do solo e sem a fonte de carbono no meio de cultura. E controle negativo os poços sem a suspensão do solo e meio de cultura com as fontes de carbono. As placas foram incubadas no escuro a 25 °C por 72 h. A absorbância das reações de incubação foram medidas em um leitor de microplacas (Biotek,

ELX 800 Instruments, Inc, Winooski, VE, USA) a 595 nm. Os valores de absorvância foram utilizados para calcular o desenvolvimento médio de cor (sigla em inglês, AWCD), que indica a capacidade da fonte de C em suportar a atividade microbiana do solo, com a seguinte equação proposta por Garland e Mills (1991):

$$AWCD = \sum (C_i - r) / n$$

onde, C_i é a absorvância de cada poço; r é a absorvância do poço de controle (meio de cultura, sem a fonte de C); e, n o número de fontes de C utilizadas. Os valores de “ $C_i - r$ ” negativos foram ajustados para zero (Tian et al., 2016).

Os valores de absorvância também foram utilizados para calcular a diversidade metabólica, por meio do índice de diversidade de Shannon, H' , com a equação proposta por Zak et al. (1994):

$$H' = - \sum [p_i (\ln p_i)]$$

onde, $p_i = (C_i - r) / \sum (C_i - r)$.

1.2.2.4. Extração e sequenciamento do 16 S rDNA

Foi realizada uma amostra por parcela, totalizando quatro repetições por tratamento. O DNA do solo foi extraído com PowerLyzer PowerSoil DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, Inc, Carlsbad, CA), seguindo instruções do fabricante. A qualidade do DNA extraído foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,8 % (p/v), e quantificado por espectrofotometria em Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Inc, Wilmington, USA). Vinte nanogramas de DNA foram utilizados como molde para amplificação da região V4 do gene 16SrRNA, com os primers 515F e 806R e a KlenTaq (Caporaso et al., 2012). Os produtos da PCR foram quantificados com Qubit dsDNA HS kit (Invitrogen), e sequenciados com o 500V2 Sequencing Kit (Illumina) em Illumina MiSeq (5200 Illumina Way, Inc, California, U.S.A.). As sequências de DNA foram analisadas na plataforma QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) versão 1.8.0 (Caporaso et al., 2010). As sequências foram agrupadas em Unidades Operacionais Taxonômicas (sigla em inglês OTU) e em cinco níveis taxonômicos: filo, classe, ordem, família e gênero de bactérias e arqueias, considerando 97 % de similaridade com o banco de dados SILVA (Quast et al., 2013) e linha de corte de 12,5 mil sequências. Não foi realizado repetição de laboratório, foram quatro repetições de campo de cada tratamento.

1.2.5. Análises estatísticas

As variáveis quantitativas foram submetidas ao teste de Shapiro wilk para confirmação das premissas da análise de variância (ANOVA). Com base nesse teste, os dados de atividade metabólica foram transformados com $(\log + 1)$ para a normalização. A ANOVA foi aplicada seguindo os preceitos de delineamento de blocos ao acaso em esquema de parcelas subdivididas, em que as parcelas (sistemas: sucessão e rotação de culturas) testavam a riqueza de espécies vegetais agrícolas e as subparcelas testavam as espécies vegetais individualmente (períodos de cultivo: trigo em pré-colheita e soja em florescimento), e quatro repetições. Posteriormente foi realizada a análise de correlação de Pearson.

A análise de variância da abundância relativa de sequências de bactérias e arqueias (PERMANOVA) foi realizada separadamente em cada um dos níveis taxonômicos estudados no mesmo delineamento proposto às variáveis quantitativas. Os índices de riqueza, diversidade “Shannon” e “Simpson” e equitabilidade “Pielou” dos gêneros de bactérias e arqueias foram calculados com uso do pacote vegan (Oksanen et al., 2017).

Foi calculado o índice de valor indicativo (IndVal) proposto por Dufrêne e Legendre (1997) que nesse estudo tem a finalidade de identificar os gêneros ou um conjunto de gêneros característicos do solo amostrado (solo sob cultivo de trigo em pré-colheita e soja em florescimento). O IndVal foi determinado com base na abundância relativa e na ocorrência do gênero dentro de um determinado conjunto de amostras, respectivamente a especificidade e a fidelidade do gênero as propriedades do solo amostrado. O valor do IndVal varia entre 0 (quando o gênero está ausente em todas as repetições amostradas de um mesmo tratamento) e 1 (quando o gênero está presente e com alta abundância em todas as repetições amostrada de um mesmo tratamento). A significância estatística dos valores do IndVal é avaliada utilizando randomização com 9999 permutas (Legendre e Legendre, 2012).

Todas as análises foram realizadas no ambiente R (RStudio Team, 2016). Os pacotes estatísticos utilizados para ANOVA, PERMANOVA e IndVal foram, respectivamente: ExpDes (Ferreira et al., 2013), vegan (Oksanen et al., 2017) e labdsv (Roberts, 2016).

1.3. RESULTADOS

A etapa de sequenciamento resultou no total de 1.022.184 sequências genéticas utilizáveis, das quais, 99 % foram agrupadas em 25 filos, 98 % em 79 classes, 84 % em 93 ordens, 58 % em 108 famílias, 25 % em 56 gêneros de bactérias e arqueias do solo (dados não apresentados). Independente dos tratamentos, os filos de bactérias com maior abundância

foram *Proteobacteria* (30 %), *Actinobacteria* (19 %), *Acidobacteria* (16 %), *Chloroflexi* (7%), *Verrucomicrobia* (5 %), *Gemmatimonadetes* (4 %), *Planctomycetes* (5 %), *Firmicutes* (3 %), *AD3* (2 %), *Nitrospirae* (2 %), *WS3* (1 %) e *Bacteroidetes* (1 %) e; de aqueias o *Crenarchaeota* (1 %) (Tabela suplementar 1), e os gêneros de bactérias foram *Rhodoplanes* (8 %), *DA101* (2 %), *Streptomyces* (1 %), *Bradyrhizobium*, (1 %), *Candidatus Xiphinematobacter* (1 %), *Paenibacillus* (1 %) e; arqueias o *Candidatus Nitrososphaera* (1 %) (Tabela suplementar 2).

Os sistemas de cultura em rotação e sucessão, contrastando dois diferentes níveis de riqueza de plantas ao longo do tempo, não provocaram diferenças significativas (em todos os níveis taxonômicos) na estrutura da comunidade de bactérias e arqueias do solo sob plantio direto (Tabela 1). Entretanto a produtividade do trigo no sistema de rotação de culturas foi superior em relação à sucessão (Tabela 3). Já a produtividade da soja não diferiu entre os sistemas de culturas (Tabela 3).

As culturas individualmente (trigo e soja, avaliadas nos períodos de pré-colheita do trigo e florescimento da soja) afetaram a riqueza e a abundância de bactérias e arqueias em todos os níveis taxonômicos, sobretudo, em nível de gêneros (Tabela 1). Os gêneros indicativos do tratamento segundo o índice IndVal que considera a abundancia relativa e a ocorrência do gênero em cada amostra indicou que no cultivo de trigo em pré-colheita os gêneros *Candidatus Nitrososphaera*, *Catellatospora*, *Devosia*, *Dokdonella*, *Geodermatophilus*, *Hyphomicrobium*, *Kaistobacter*, *Methylibium*, *Mycobacterium*, *Nitrospira*, *Nocardioides*, *Pseudonocardia*, *Rhizobium* e *Streptomyces* são indicativo (Tabela 2). Por outro lado, os gêneros indicativos no cultivo da soja em florescimento foram *Candidatus Xiphinematobacter*, *Candidatus Koribacter*, *Rhodoplanes*, *DA101* (Tabela 2).

Os índices de riqueza e de diversidade Simpson e Shannon e de equitabilidade Pielou em nível de gênero também não diferiram devido ao sistema de culturas, mas mudaram drasticamente devido à cultura instalada no momento da coleta (Tabela 3). Os quatro índices foram maiores no trigo em pré-colheita do que na soja em florescimento (Tabela 3).

Tabela 1. Valor do $p > F$ obtido por meio da análise PERMANOVA da abundância relativa de bactérias e arqueias do solo sob sistemas de culturas em sucessão e rotação, nos períodos de desenvolvimento do trigo em pré-colheita e soja em florescimento, na área experimental da Fundação ABC, Ponta Grossa - PR.

	Níveis taxonômicos				
	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero
	Valor $p > F$				
Sistema	0,337*	0,326	0,238	0,232	0,234
Cultura	0,001	0,012	0,002	0,002	0,001
Sistema: Cultura	0,937	0,895	0,992	0,974	0,995

Valor $p > F$ menor do que 0,05 anula a hipótese do acaso, ou seja, indica a diferença entre os tratamentos

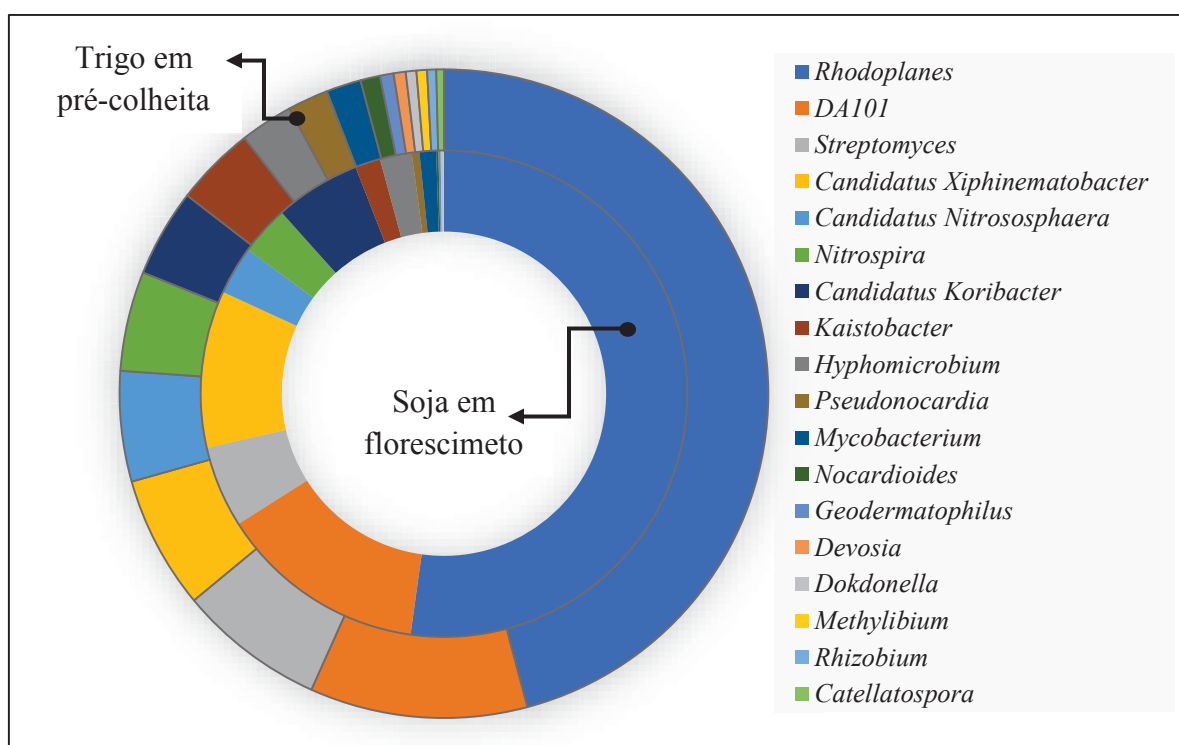


Figura 1. Abundância relativa dos gêneros indicativos dos períodos de desenvolvimento do trigo em pré-colheita e soja em florescimento sob plantio direto em sistemas de sucessão e rotação de culturas, na área experimental da Fundação ABC, Ponta Grossa – PR.

Com exceção do N mineralizável (N min), nenhum dos atributos do solo sofreu alteração significativa devido ao sistema de rotação de culturas (Tabela 3). O pH, a respiração microbiana (RM), o quociente metabólico do solo (qCO_2) e o quociente microbiano ($qMIC$)

foram afetados pela cultura instalada no período de coleta; de forma que, o pH, a RM e o qCO_2 foram mais altos no trigo em pré-colheita (Tabela 3; $p < 0,05$) e $qMIC$ foi maior na soja em florescimento (Tabela 3). O carbono orgânico total (COT) não diferiu nos sistemas de sucessão e rotação de culturas ($p = 0,15$) e nem em relação a cultura ($p = 0,16$), porém a interação entre sistema e cultura ($p = 0,003$) evidenciou que o COT foi maior no cultivo de trigo em pré-colheita no sistema de sucessão (Tabela 3).

Embora o N total (NT) tenha sido mantido sem alterações significativas nos dois sistemas de culturas ($p=0,420$) e nas culturas avaliadas ($p=0,370$) [Tabela 3], o N min diferiu em relação ao sistema ($p=0,002$), e cultura instalada no momento das coletas ($p=0,0002$) e também teve seus valores alterados em função da interação dos fatores (Tabela 3; $p=0,01$). Assim, na comparação dos sistemas, o N min foi maior na sucessão de culturas; na comparação das culturas considerando a média geral das culturas, o N min foi maior no cultivo de trigo em pré-colheita. Ou seja, a ANOVA neste caso evidenciou que o sistema de rotação teve maior potencial em mineralizar o nitrogênio durante o cultivo do trigo em pré-colheita (Tabela 3).

Além disso, um aspecto interessante sobre os atributos do solo é que o pH ($r = 0,80$, $p < 0,001$), a RM ($r = 0,84$, $p < 0,001$) e a N min ($r = 0,70$, $p < 0,001$) apresentaram correlação significativa com a diversidade de Shannon de gênero de bactérias e arqueias. Contudo, a diversidade metabólica e a capacidade de variadas fontes de carbono em suportar a atividade metabólica da microbiota do solo poderiam ser uma consequência das mudanças de diversidade taxonômica, mas não foram afetadas pelos sistemas de culturas ou pela cultura instalada no período da coleta (Tabela 3). Porém, a composição da fonte de carbono que promoveu a atividade metabólica dos microrganismos foi diferente nas duas culturas (Figura 2). Os compostos orgânicos frutose, ácido málico, cítrico e alfa-cetoglutárico resultaram em maior atividade microbiana do solo durante o desenvolvimento das duas culturas estudadas, porém em proporções diferentes (Figura 2).

Tabela 2. Gêneros indicadores das culturas trigo em pré-colheita e soja em florescimento.

Épocas	Gênero	IndVal	p> F
Pré-colheita do trigo	<i>Devosia</i>	1,000	0,001*
	<i>Nocardioides</i>	0,867	0,004
	<i>Geodermatophilus</i>	0,818	0,010
	<i>Pseudonocardia</i>	0,794	0,001
	<i>Methylibium</i>	0,766	0,007
	<i>Rhizobium</i>	0,750	0,007
	<i>Kaistobacter</i>	0,697	0,001
	<i>Dokdonella</i>	0,681	0,044
	<i>Catellatospora</i>	0,625	0,035
	<i>Candidatus Nitrososphaera</i>	0,624	0,005
	<i>Mycobacterium</i>	0,605	0,006
	<i>Nitrospira</i>	0,595	0,021
	<i>Streptomyces</i>	0,567	0,016
	<i>Hyphomicrobium</i>	0,547	0,042
Florescimento da soja	<i>Candidatus Xiphinematobacter</i>	0,619	0,006
	<i>Candidatus Koribacter</i>	0,574	0,017
	<i>DA101</i>	0,568	0,009
	<i>Rhodoplanes</i>	0,540	0,009

* Valor $p > F$ menor do que 0,05 anula a hipótese do acaso, ou seja, indica a diferença entre os tratamentos.

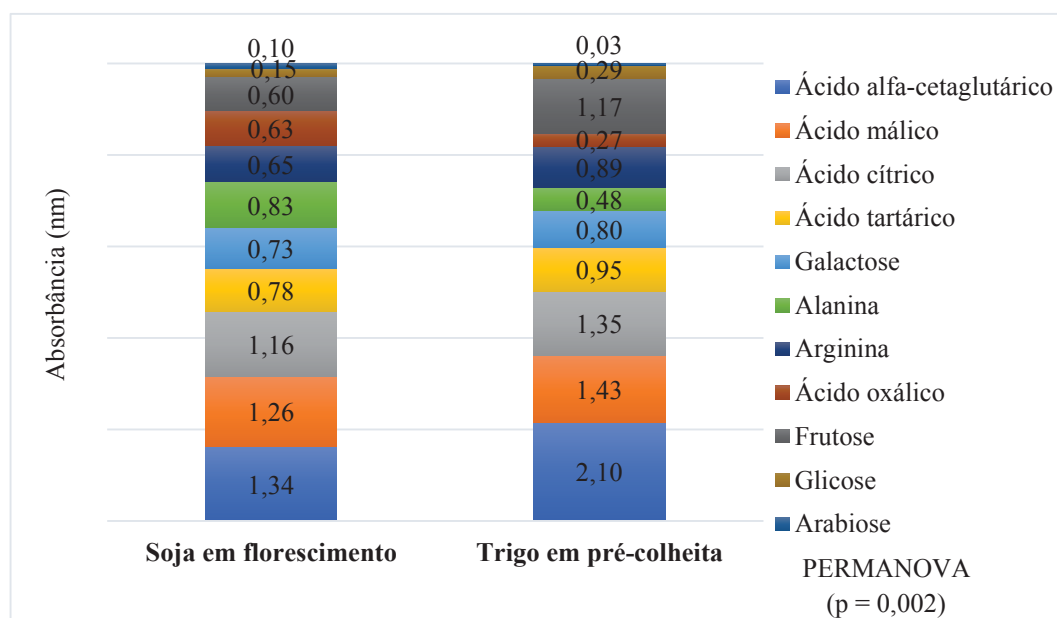


Figura 2. Absorvância (nm) oriunda da degradação de diferentes fontes de carbono indicando a atividade metabólica da microbiota do solo. O solo estava sobre cultivo de trigo em pré-colheita e soja em florescimento sob plantio direto em sistema de sucessão e rotação de culturas na área experimental da Fundação ABC, Ponta Grossa – PR.

Tabela 3. Atributos do solo, atividade metabólica e índices de riqueza e diversidade de gêneros de bactérias e arqueias do solo sob sistemas de cultura em sucessão e rotação, nos períodos de desenvolvimento do trigo em pré-colheita e soja em florescimento, na área experimental da Fundação ABC, Ponta Grossa - PR.

Atributos do solo	Sistema	Valor p > F		Sucessão		Rotação	
		Cultura	Interação*	Trigo	Soja	Trigo	Soja
pH (CaCl ₂)	0,440	0,003	0,640	5,51	5,23	5,47	5,25
COT (g C kg ⁻¹ de solo)	0,150	0,160	0,030	27,11	23,31	23,52	24,06
NT (g N kg ⁻¹ de solo)	0,420	0,370	0,053	2,01	1,79	1,91	1,95
CBM (µg C g ⁻¹ de solo)	0,750	0,070	0,240	139,39	188,63	162,40	174,29
NBM (µg N g ⁻¹ de solo)	0,420	0,610	0,410	16,71	19,13	20,60	27,72
RM (µg C-CO ₂ g ⁻¹ solo seco dia ⁻¹)	0,540	2,0 x 10 ⁻⁴	0,720	16,38	3,89	14,28	3,15
qCO ₂ (µg C-CO ₂ µg ⁻¹ Cmic dia ⁻¹)	0,140	0,002	0,720	0,12	0,02	0,10	0,02
qMIC (%)	0,610	0,032	0,051	0,51	0,81	0,69	0,73
N min (µg N g ⁻¹ de solo)	0,002	2,0 x 10 ⁻⁴	0,010	6,10	2,82	10,68	2,34
Diversidade metabólica – Shannon	0,101	0,200	0,630	2,07	2,13	2,15	2,17
Índices de riqueza e diversidade							
Riqueza	0,130	1,2 x 10 ⁻⁴	1,000	44,25	35,50	45,50	36,75
Shannon	0,460	8,5 x 10 ⁻⁵	0,520	2,94	2,64	2,94	2,59
Simpson	0,400	8,6 x 10 ⁻⁵	0,640	0,89	0,85	0,88	0,83
Pielou	0,210	5,1 x 10 ⁻⁴	0,300	1,07	0,95	1,06	0,93
Produtividade (kg ha ⁻¹)	-	-	-	4423	4218	5033	4557

* Interação entre os sistemas e culturas. * Valor p > F menor do que 0,05 anula a hipótese do acaso. ANOVA da produtividade foi considerado somente o fator sistemas, a análise foi realizada separadamente entre culturas, trigo (p=0,031), soja (p=0,067). COT – carbono orgânico total; NT – nitrogênio total; CBM – carbono da biomassa microbiana; NBM – nitrogênio da biomassa microbiana; RM – respiração microbiana; qCO₂ – quociente metabólico; qMIC – quociente microbiano; N min – nitrogênio mineralizado.

1.4. DISCUSSÃO

1.4.1. Existe relação entre a riqueza de espécies vegetais agrícolas ao longo do tempo com a estrutura e a diversidade da comunidade de bactérias e arqueias do solo?

Considerando a hipótese de que a riqueza de espécies vegetais agrícolas aumenta a produtividade do sistema (Zak et al., 2003) e o teor de C no solo (Trivedi et al., 2015; Kiani et al., 2017), além de melhorar a estrutura do solo (Kiani et al., 2017) era esperado que a rotação de culturas alterasse a comunidade de bactérias e arqueias do solo. Entretanto, nesse estudo, isso não ocorreu. A estrutura da comunidade de bactérias e arqueias não diferiu entre os sistemas ($p > 0,05$) com diferentes riquezas de espécies vegetais ao longo do tempo – rotação e sucessão de culturas (Tabela 1).

Estudo realizado em Londrina-PR, em sistemas de sucessão e rotação de culturas sob plantio direto, corroboram com esse estudo, pois a estrutura da comunidade de bactérias e arqueias, em nível de filo, foi semelhante nos dois sistemas (Souza et al., 2013). Naquele estudo, foi identificada somente uma redução na abundância relativa das *Actinobactérias* no sistema de rotação (Souza et al., 2013). Em outros experimentos realizados em clima temperado, a riqueza de plantas alterou a microbiota edáfica, principalmente, devido à inserção de leguminosa no sistema (Wang et al., 2017), e pela mudança no teor de COT (Trivedi et al., 2015). Em Ponta Grossa, no cultivo do trigo em pré-colheita, a sucessão de culturas acumulou mais COT do que a rotação de culturas (Tabela 3), porém a estrutura da comunidade de bactérias e arqueias foi semelhante entre os dois sistemas. Esse resultado sugere que alterações no COT em curto prazo não alteram a estrutura da comunidade microbiana.

As diferenças na abundância de muitos gêneros (Figura 1) indicam que a planta é o principal fator que modulou a comunidade de bactérias e arqueias (Tabela 1; $p < 0,05$), provavelmente, devido à entrada de carbono via trigo e soja. Da mesma maneira, Benitez et al. (2017), em clima temperado, com sistema de rotação de culturas com quatro espécies vegetais, concluíram que as plantas que compõem a rotação afeta a comunidade de bactérias e fungos do solo. A coleta de solo do estudo de Benitez et al. (2017) foi realizada após a colheita do milho. A influência da espécie da planta sobre a estrutura da comunidade microbiana se dá, principalmente, pela entrada de composto orgânico ao solo (Gregory, 2006; Dey et al., 2012; Vezzani et al., 2018), que é diferente

em cada espécie vegetal (Turner et al., 2013) e fase de desenvolvimento (Chaparro et al., 2014; Sugiyama et al., 2014).

1.4.2. A dinâmica da entrada de carbono via raízes altera a estrutura da comunidade de bactérias e arqueias?

No período do cultivo do trigo em pré-colheita, a planta estava em processo inicial de senescência, e o C oriundo do tecido radicular do trigo estaria disponível para os microrganismos. Portanto, além dos exsudatos radiculares, que são compostos orgânicos de baixo peso molecular (Haichar et al., 2014), a microbiota do solo provavelmente tinha acesso ao C adicionado, proveniente do tecido radicular, constituído principalmente de lignina (Baumann et al., 2013) e compostos fenólicos (Leigh et al., 2002). Logo, tanto o C lábil quanto o recalcitrante puderam ser metabolizados pela microbiota.

Os microrganismos diferem na capacidade de degradar compostos orgânicos recalcitrantes e lábeis respectivamente, copiotróficos (r-estrategistas) e oligotróficos (k-estrategistas) [Fierer et al., 2007]. Por isso, a diversidade de compostos orgânicos presentes no solo pode ter sido um fator importante para a diversidade de gêneros de bactérias e arqueias. As condições orgânicas do solo no trigo em pré-colheita puderam promover seleção de microrganismos copiotróficos e oligotróficos ao mesmo tempo, e com isso aumentou a diversidade de gêneros de bactérias e arqueias (Tabela 3). Isso pode ter ocorrido, porque, a fonte de carbono disponível seleciona microrganismos que conseguem, por meio da liberação de enzimas, extrair nutrientes do substrato (Fontaine et al., 2003), ou seja, decompor o tecido radicular. Então, além das populações microbianas que foram estimuladas pelos compostos lábeis, o processo de decomposição do tecido radicular pode ter possibilitado o aumento de populações que conseguem se nutrir, a partir de moléculas mais complexas, como é o caso da lignina.

O gênero *Streptomyces* foi o gênero com maior abundância relativa no solo cultivado com trigo em pré-colheita (Figura 1). Sua abundância pode estar ligada ao processo de decomposição de lignina, pois esse grupo de bactéria e até mesmo outros que não foram identificados, tem a capacidade de degradar polímeros complexos e recalcitrantes, como lignina, hemicelulose e celulose (Suela Silva et al., 2013). Por exemplo, a espécie *Streptomyces ipomoeae* libera a enzima lactase e outras enzimas

oxidativas que estão associadas à decomposição de lignina oriunda da palhada de trigo (Arias et al., 2016).

As bactérias do gênero *Streptomyces* podem liberar antibióticos ao ambiente externo, incluindo aminoglicosídeo e clorofenicol (Jones e Elliot, 2017), o que supostamente provocaria a dominância delas no solo. Porém, devido à diversidade de compostos orgânicos presentes nos sistemas de culturas, essa dominância não foi observada, tendo em vista que durante o cultivo do trigo em pré-colheita, período no qual teve maior abundância de *Streptomyces* (Figura 1), os índices de Shannon (2,94), Pielou (1,06) e Simpson (0,89) não evidenciaram dominância, e sim maior diversidade em relação a época de cultivo de soja em florescimento (Tabela 3). A diversidade pode estar associada às fontes de carbono adicionadas via decomposição do tecido radicular e compostos orgânicos lábeis exsudatos pelas raízes que estimularam o aumento da população de outros gêneros de bactérias: *Catellatospora*, *Devosia*, *Dokdonella*, *Geodermatophilus*, *Hyphomicrobium*, *Kaistobacter*, *Methylibium*, *Mycobacterium*, *Nitrospira*, *Nocardioides*, *Pseudonocardia*, *Rhizobium* e; da arqueia *Candidatus Nitrososphaera*. Os gêneros de bactérias e arqueias identificados neste estudo exercem funções edafo-ecossistêmicas importantes e beneficiam as plantas de diversas maneiras (Tabela 4), podendo, assim, aumentar a capacidade da planta em produzir grãos.

Após a colheita do trigo, a cultura que entrou nos dois sistemas de produção estudados foi a soja, na qual a avaliação da comunidade de bactérias e arqueias foi realizada na fase do florescimento, momento em que a planta está em alta atividade metabólica e com isso libera ao solo grandes quantidades de exsudatos radiculares (Marschner 1995). Além disso, ocorre a alteração da composição dos exsudatos tendo a predominância dos compostos orgânicos liberados pelas raízes como fonte de carbono para a microbiota (Schidt e Eickhorst, 2013). Logo, nesse período, os compostos orgânicos via exsudação radicular da soja tende a promover a seleção de populações de microrganismos específicos que podem estar relacionados a benefícios para a planta (Mendes et al., 2014; van Dam e Bouwmeester, 2016). A seleção de populações de bactérias gerada pela fase de desenvolvimento da cultura da soja (pleno florescimento) pode explicar a redução da riqueza e da diversidade de gêneros de bactérias e arqueias (Tabela 3) em relação ao período de cultivo de trigo em pré-colheita. As bactérias podem regular a liberação de metabólicos radiculares e o tipo desses compostos

exsudatos regula o potencial simbiótico entre as plantas e microrganismos (Kuzmicheva et al., 2017), o que pode impedir o crescimento de outras populações bacterianas que ocupam o mesmo nicho, consequentemente diminuindo a diversidade da comunidade de bactérias e arqueias.

Outro fator que pode ter sido responsável pela redução da riqueza e da diversidade de gêneros de bactérias e arqueias no solo sob o cultivo de soja em florescimento pode ter sido a competição (Chaparro et al., 2013) de bactérias indígenas e exóticas pelo o mesmo nicho. Em sistemas de produção de soja no Brasil, a inoculação das sementes com bactérias do gênero *Bradyrhizobium* tem sido recomendada por ser mais eficiente para o processo de fixação simbiótica do nitrogênio (Kumar et al., 2017) do que as bactérias que ocorrem naturalmente no solo. A inoculação põe as bactérias inoculadas em contato mais próximo com as raízes da planta, o que facilita a comunicação bioquímica entre planta-bactéria e a formação do nódulo. Os genes nod, que inicia o processo de simbiose, é estimulado por flavonoides, compostos orgânicos que são liberados pelas plantas. Após a formação do nódulo, a planta não estimula, por meio de liberação de compostos orgânicos, outras populações de bactérias fixadoras de nitrogênio, pois o nicho já está ocupado. Além disso, as bactérias do gênero *Bradyrhizobium* liberam uma substância chamada bradióxetina (Bogino et al., 2015) que tem propriedades antibióticas e confere vantagens competitivas ao gênero *Bradyrhizobium* em relação às outras bactérias que fixam nitrogênio (Bogino et al., 2015).

Somente no solo do trigo em pré-colheita foi identificado a presença de *Devosia* e *Rhizobium* (Tabela suplementar 2). Esse resultado indica que ao longo do tempo a inoculação com *Bradyrhizobium* na soja não leva à extinção das populações nativas de bactérias fixadoras de nitrogênio. Os exsudatos radiculares da soja em florescimento estimularam o aumento da população dos gêneros de bactérias *Rhodoplanes*, *DA101*, *Candidatus Koribacter* e *Candidatus Xiphinematobacter*. Alguns desses gêneros podem desenvolver funções no sistema solo que estão descritas na Tabela 4.

As culturas do trigo e da soja certamente afetaram a composição orgânica do solo, e, provavelmente devido às diferenças na composição dos exsudatos e na arquitetura radicular (White et al., 2013), alteraram a estrutura da comunidade de bactérias e arqueias. Estudo realizado por (Souza et al., 2013) sugere a importância do

uso de rotação de culturas para quebrar interações planta-bactéria maléfica, uma vez que a cultura anterior altera a comunidade microbiana e interfere no desenvolvimento e na resistência da planta em desenvolvimento a patógenos (Benitez et al., 2017). Logo, a riqueza de espécies vegetais agrícolas ao longo do tempo gera modificações positivas na estrutura e na diversidade da comunidade de bactérias e arqueias do solo, pois cada espécie vegetal vai selecionar comunidades microbianas diferentes.

Tabela 4. Possíveis funções desempenhadas no solo pelos gêneros indicativos da época de cultivo de trigo em pré-colheita e soja em florescimento.

Época	Gênero	Função	Referência
Trigo em pré-colheita	<i>Streptomyces</i>	Degradação de lignina; promovem crescimento vegetal; reduzem a ocorrência e a severidade de doenças fúngicas; liberam antibióticos.	Arias et al., 2016; Toumatia et al., 2016; Monteiro et al., 2017; Jones e Elliot, 2017.
	<i>Candidatus Nitrososphaera</i>	Oxidação de amônio	Hirsch e Mauchline, 2015.
	<i>Hyphomicrobium</i>	Desnitrificação	Wang et al., 2017a.
	<i>Devosia e Rhizobium</i>	Fixadores de nitrogênio	James, 2017.
	<i>Mycobacterium</i>	Promotor de crescimento vegetal na cultura do trigo	Coombs e Franco, 2003.
	<i>Nocardioides</i>	Promotor de crescimento vegetal na cultura do trigo	Egamberdiyeva e Höflich, 2003.
	<i>Nitrospira</i>	Oxidação de nitrito	Ushiki et al., 2017.
	<i>Pseudonocardia</i>	Produção de antibióticos contra fungos parasitas de planta do gênero <i>Escovopsis</i>	Sen et al., 2009.
Soja em florescimento	<i>Candidatus Koribacter</i>	Mineralização de nitrogênio	Ward et al., 2009.
	<i>Candidatus Xiphinematobacter</i>	Bactérias simbiotes obrigatórios de nematoides do grupo <i>Xiphinema americanum</i> .	Vandekerckhove et al., 2000.

1.4.3. Alterações na estrutura e na diversidade da comunidade de bactérias e arqueias interferem no sistema solo?

A diversidade de gêneros de bactérias e arqueias teve correlação positiva com o pH ($r = 0,80$, $p < 0,001$), a respiração microbiana ($r = 0,84$, $p < 0,001$) e a mineralização de nitrogênio ($r = 0,70$, $p < 0,001$). Esse resultado sugere que o aumento da diversidade de gêneros de bactérias e arqueias aumenta a ciclagem de nutrientes, determinada pelos valores de RM e N min. Sendo assim, a diversidade taxonômica é necessária para a manutenção do funcionamento do solo (Mendes et al., 2015).

A literatura reporta que o pH é o principal responsável pela diversidade da microbiota edáfica (Ramirez et al., 2010) e quando o pH do solo tende a ser mais neutro, a diversidade de bactérias é maior (Fierer et al., 2012), pois a maioria das bactérias crescem em pH mais alto. As bactérias dos gêneros *Rhodoplanes*, *Candidatus Koribacter* e *Candidatus Xiphinematobacter* são adaptados a solo com pH mais baixo e tiveram maior abundância na época de desenvolvimento da soja em florescimento.

Além disso, o aumento da respiração microbiana no cultivo de trigo em pré-colheita também pode estar relacionado à decomposição do tecido radicular, rico em lignina um composto de alto peso molecular e recalcitrante (Bao et al., 2017) que requer mais energia para ser decomposto. Resultado semelhante foi encontrado por Ramirez-Villanueva et al. (2015) que ao adicionarem materiais mais recalcitrantes no solo, observaram aumento na respiração do solo.

A hipótese inicial desse trabalho assumia que a maior riqueza de espécies vegetais e a consequente adição diversificada de resíduos vegetais deveriam aumentar os teores de COT (Ferreira et al., 2016). Entretanto o teor de COT foi maior no sistema de sucessão, as variações ocorridas nos grupos taxonômicos e as possíveis alterações funcionais relacionadas a elas devem ter contrabalanceado os efeitos da rotação de culturas.

O quociente microbiano (qMIC) aumentou no período da soja em florescimento proporcionalmente a redução do COT (Tabela 3). Isto indica que o COT pode estar sendo imobilizado na biomassa microbiana. Essa possível imobilização pode ser explicada pela mudança da composição dos exsudatos radiculares na floração (Schmidt e Eickhorst, 2013), quando ocorre a substituição de açúcares por ácidos orgânicos, os quais favorecem o crescimento microbiano (Schmidt e Eickhorst, 2013).

O carbono orgânico armazenado no solo não é formado somente de compostos recalcitrantes (Schmidt et al., 2011; Cotrufo et al., 2015), mas pode também incluir compostos lábeis de fácil decomposição que estão protegidos fisicamente em nichos de difícil acesso aos microrganismos (Schmidt et al., 2011). Os aminoácidos, por exemplo, que representam os compostos lábeis, demoram em torno de 2,6 h para serem decompostos pela microbiota do solo quando não estão protegidos fisicamente (Jones et al., 2005). Por outro lado, os compostos lábeis podem persistir por décadas no solo quando estão protegidos (Schmidt et al., 2011).

A diversidade metabólica não seguiu a mesma tendência da diversidade de gêneros de bactérias e arqueias como era esperado, pois não teve diferença de diversidade metabólica entre os períodos em que trigo e soja estavam em desenvolvimento (Tabela 3). As fontes de carbono utilizadas no ensaio simulam alguns dos exsudatos radiculares comumente encontrados nas espécies vegetais, ou seja, somente fontes lábeis de carbono foram testadas.

1.5. CONCLUSÕES

As mudanças na estrutura e na diversidade das comunidades de bactérias e arqueias provavelmente foram relacionadas à diversificação da composição orgânica do solo. A cultura individualmente foi responsável por modular a comunidade de bactérias e arqueias em solos de plantio direto de longo prazo e não a riqueza de culturas ao longo do tempo. . Neste sentido, reafirma-se a importância do cultivo diversificado em longo prazo (rotação), pois cada cultura em desenvolvimento pode afetar a ecologia do solo, que resulta na funcionalidade do sistema como um todo. A alteração na comunidade de bactérias e arqueias refletiu, principalmente, nos ciclos do carbono e do nitrogênio, medidos por meio da respiração microbiana e mineralização de nitrogênio.

1.6. LITERATURA CITADA

Addiscott TM. Entropy, non-linearity and hierarchy in ecosystems. *Geoderma*. Elsevier B.V.; 2010;160:57–63.

Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, De Moraes Gonçalves JL, Sparovek G. Koppen's climate classification map for Brazil Clayton. *Meteorol Zeitschrift*. 2013;22:711–728.

APHA - American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19 ed. Washington: American Public Health Association, 1995.

Arias ME, Blázquez A, Hernández M, Rodríguez J, Ball AS, Jiménez-Morillo NT, González-Vila FJ, González-Pérez JA. Role of a thermostable laccase produced by *Streptomyces ipomoeae* in the degradation of wheat straw lignin in solid state fermentation. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. Elsevier B.V.; 2016;122:202–208.

Anderson, JPE. Soil respiration. In: PAGE AL, MILLER RH, KEENEY DR (Ed.). *Methods of soil analysis*. Ed. Madison: American Society of Agronomy: Soil Science Society of Agronomy, 1982. p. 831-872. (Agronomy, 9). part 2: Chemical and microbiological properties.

Anderson JPE, Domsch KH. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology & Biochemistry*. 1978;10:215–221.

Balota EL, Filho AC, Andrade DS, Dick RP. Long-term tillage and crop rotation effects on microbial biomass and C and N mineralization in a Brazilian Oxisol. *Soil Tillage Research*. 2004;77:137–145.

Bao H, Kao SJ, Lee TY, Zehetner F, Huang JC, Chang YP, Lu JT, Lee JY. Distribution of organic carbon and lignin in soils in a subtropical small mountainous river basin. *Geoderma*. Elsevier; 2017;306:81–88.

Bartlett R, Ross D. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. *Soil Science Society America Journal*. 1988;1192:1191–1192.

Benitez M, Osborne SL, Lehman RM. Previous crop and rotation history effects on maize seedling health and associated rhizosphere microbiome. *Scientific Reports*. Springer US; 2017;1–13.

Bochner BR, Gadzinski P, Panomitros E, Bochner BR, Gadzinski P, Panomitros E. Phenotype MicroArrays for High-Throughput Phenotypic Testing and Assay of Gene Function. *Genome Research*. 2001;11:1246–1255.

Bogino PC, Nieves FL, Giordano W. A review : Quorum sensing in *Bradyrhizobium*. *Applied Soil Ecology*. Elsevier B.V.; 2015;94:49–58.

Brookes PC, Landman A, Pruden G, Jenkinson DS. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology & Biochemistry*. 1985;17:837–842.

Campos SB, Lisboa BB, Camargo FAO, Bayer C, Sczyrba A, Dirksen P, Albersmeier A, Kalinowski J, Beneduzi A, Costa PB, Passaglia LMP, Vargas LK, Wendisch VF. Soil suppressiveness and its relations with the microbial community in a Brazilian subtropical agroecosystem under different management systems. *Soil Biology & Biochemistry*. 2016;96:191–197.

Carvalho MDA, Lana CC, Bengtson P, Sá NDP. Late Aptian (Cretaceous) climate changes in northeastern Brazil : A reconstruction based on indicator species analysis (IndVal). *Palaeogeogr Palaeroclimatology, Palaeoecol*. 2017;485:543–560.

Cao H, Chen R, Wang L, Jiang L, Yang F, Zheng S, Wang G, Lin X. Soil pH, total phosphorus, climate and distance are the major factors influencing microbial activity at a regional spatial scale. *Scientific Reports*. 2016;6:25815.

Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JJ, Huttley G a, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone C a, Mcdonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Turnbaugh PJ, Walters W a, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. correspondence QIIME allows analysis of high- throughput community sequencing data Intensity normalization improves color calling in SOLiD sequencing. *Nat Publ Gr. Nature Publishing Group*; 2010;7:335–336.

Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Huntley J, Fierer N, Owens SM, Betley J, Fraser L, Bauer M, Gormley N, Gilbert JA, Smith G, Knight R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME Journal. Nature Publishing Group*; 2012;6:1621–1624.

Chaparro JM, Badri D V, Vivanco JM. Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development. *ISME Journal. Nature Publishing Group*; 2014;8:790–803.

Chen ZJ, Tian YH, Zhang Y, Song BR, Li HC, Chen ZH. Effects of root organic exudates on rhizosphere microbes and nutrient removal in the constructed wetlands. *Ecological Engineering. Elsevier B.V.*; 2016;92:243–250.

Coskun D, Britto DT, Shi W, Kronzucker HJ. How Plant Root Exudates Shape the Nitrogen Cycle. *Trends Plant Science. Elsevier Ltd*; 2017;22:661–673.

Cotrufo MF, Soong JL, Horton AJ, Campbell EE, Haddix ML, Wall DH, Parton WJ. Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. *Nature Geoscience*. 2015;8:776–779.

- Dey R, Pal KK, Tilak KVBR. Influence of soil and plant types on diversity of rhizobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*. 2012;82:341–352.
- Dufrêne M, Legendre P. Species Assemblages and Indicator Species : The Need for a Flexible Asymmetrical Approach. *Ecological Society of America*. 1997;67:345–366.
- Feije F, Anger V. Spot test in inorganic analysis. *Analytical chemistry Acta*. 1972;149:363–367.
- Ferreira, EB, Cavalcanti, PP, Nogueira, DA. ExpDes: Experimental Designs package. (2013) R package version 1.1.2. <https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes>.
- Ferreira A de O, Amado T, Rice CW, Diaz DAR, Keller C, Inagaki TM. Can no-till grain production restore soil organic carbon to levels natural grass in a subtropical Oxisol? *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Elsevier B.V.; 2016;229:13–20.
- Fierer N, Brasford MA, Jackson RB. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*. 2007;88:1354–1364.
- Fierer N, Leff JW, Adams BJ, Nielsen UN, Bates ST, Lauber CL, Owens S, Gilbert JA, Wall DH, Caporaso JG. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109:21390–21395.
- Fontaine S, Mariotti A, Abbadie L. The priming effect of organic matter: A question of microbial competition? *Soil Biology & Biochemistry*. 2003;35:837–843.
- Franchini JC, Crispino CC, Souza RA, Torres E, Hungria M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. *Soil Tillage Research*. 2007;92:18–29.
- Garland JL, Mills AL. Classification and characterisation of heterotrophic microbial communities on the basis of pattern of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*. 1991;57:2351–2359.
- Grayston SJ, Griffith GS, Mawdsley JL, Campbell CD, Bardgett RD. Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*. 2001;33:533–551.
- Gregory PJ. Roots, rhizosphere and soil: The route to a better understanding of soil science? *European Journal of Soil Science*. 2006;57:2–12.
- Gupta VVSR, Germida JJ. Soil aggregation: Influence on microbial biomass and implications for biological processes. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2015;80:A3–A9.

Haichar F el Z, Santaella C, Heulin T, Achouak W. Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2014;77:69–80.

Hartman K, van der Heijden MGA, Wittwer RA, Banerjee S, Walser J-C, Schlaeppi K. Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. *Microbiome*. Microbiome; 2018;6:14.

Heinzmann FX, Miyazawa M, Pavan MA. Determinação de nitrato em extratos de solos ácidos por espectrofotometria de absorção ultravioleta. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 1984;8:159-163.

Hirsch PR, Mauchline TH. The Importance of the Microbial N Cycle in Soil for Crop Plant Nutrition [Internet]. *Advances in Applied Microbiology*. Elsevier Ltd; 2015.

Hungria M, Franchini JC, Brandão-Junior O, Kaschuk G, Souza RA. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. *Applied Soil Ecology*. 2009;42:288–296.

Iannucci A, Fragasso M, Beleggia R, Nigro F, Papa R. Evolution of the Crop Rhizosphere: Impact of Domestication on Root Exudates in Tetraploid Wheat (*Triticum turgidum* L.). *Frontiers in Plant Science*. 2017;8.

James E. Nitrogen Fixation [Internet]. Second Edi. *Encycl. Applications in Plant Sciences*. Elsevier; 2017.

Jones DL, Kemmitt SJ, Wright D, Cuttle SP, Bol R, Edwards AC. Rapid intrinsic rates of amino acid biodegradation in soils are unaffected by agricultural management strategy. *Soil Biology & Biochemistry*. 2005;37:1267–1275.

Jones SE, Elliot MA. *Streptomyces Exploration: Competition, Volatile Communication and New Bacterial Behaviours*. Trends Microbiology. Elsevier Ltd; 2017;25:522–531.

Kiani M, Hernandez-Ramirez G, Quideau S, Smith E, Janzen H, Larney FJ, Puurveen D. Quantifying sensitive soil quality indicators across contrasting long-term land management systems: Crop rotations and nutrient regimes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 2017;248:123–135.

Kumar V, Rawat AK, Rao DLN. Population ecology of soybean-rhizobia in diverse crop rotations in Central India. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Elsevier B.V.; 2017;240:261–268.

Kuzmicheva Y V., Shaposhnikov AI, Petrova SN, Makarova NM, Tychinskaya IL, Puhalsky J V., Parahin N V., Tikhonovich IA, Belimov AA. Variety specific relationships between effects of rhizobacteria on root exudation, growth and nutrient uptake of soybean. *Plant and Soil*. Springer; 2017;1–14.

- Kuzyakov Y, Blagodatskaya E. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2015;83:184–199.
- Leigh MB, Fletcher JS, Fu X, Schmitz FJ. Root turnover: An important source of microbial substrates in rhizosphere remediation of recalcitrant contaminants. *Environmental Science & Technology*. 2002;36:1579–1583.
- Li R, Khafipour E, Krause DO, Entz MH, de Kievit TR, Fernando WGD. Pyrosequencing Reveals the Influence of Organic and Conventional Farming Systems on Bacterial Communities. *PLoS One*. 2012;7.
- Marschner, H. Mineral nutrition of higher plants. San Diego: Academic Press, 1995. 889 p.
- McDaniel M, Tiemann L. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. *Ecological*. 2014;24:560–570.
- McDaniel MD, Grandy AS, Tiemann LK, Weintraub MN. Crop rotation complexity regulates the decomposition of high and low quality residues. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2014;78:243–254.
- Mendes LW, Kuramae EE, Navarrete AA, van Veen JA, Tsai SM. Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. *ISME Journal*. 2014;8:1577–1587.
- Mendes LW, Tsai SM, Navarrete AA, De Hollander M, Van Veen JA, Kuramae EE. Soil-Borne Microbiome: Linking Diversity to Function. *Microbial Ecology*. 2015;255–265.
- Monteiro P, Borba MP, Sand ST Van Der. Evaluation of the Antifungal Activity of *Streptomyces* sp . on *Bipolaris sorokiniana* and the Growth Promotion of Wheat Plants. *Journal of Agricultural Science*. 2017;9:229–240.
- Norman RI, Stucki JW. The determination of nitrate and nitrite in soil extracts by ultraviolet spectrophotometry. *Soil Science Society of America*. 1981;45:347-53.
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Szoecs E, Wagner Helene. *vegan: Community Ecology Package*. (2017). R package version 2.4-4. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Paradis E, Claude J, Strimmer K. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*. 2004;20:289-290.
- Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*. 2013;41:590–596.

Ramirez-Villanueva DA, Bello-López JM, Navarro-Noya YE, Luna-Guido M, Verhulst N, Govaerts B, Dendooven L. Bacterial community structure in maize residue amended soil with contrasting management practices. *Applied Soil Ecology*. Elsevier B.V.; 2015;90:49–59.

Ramirez KS, Lauber CL, Knight R, Bradford MA, Fierer N. Consistent effects of nitrogen fertilization on soil bacterial communities in contrasting systems. *Ecological Society of America*. 2010;91:3463–3470.

Remenant B, Grundmann GL, Jocteur-Monrozier L. From the micro-scale to the habitat: Assessment of soil bacterial community structure as shown by soil structure directed sampling. *Soil Biology & Biochemistry*. 2009;41:29–36.

Roberts DW. labdsv: Ordination and Multivariate Analysis for Ecology. (2016) R package version 1.8-0. <https://CRAN.R-project.org/package=labdsv>.

RStudio Team (2016). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

Sá JC de M, Séguy L, Tivet F, Lal R, Bouzinac S, Borszowski PR, Briedis C, Burkner J, Hartman C, Bertoloni CG, Rosa J. Carbon depletion by plowing and its restoration by No-Till cropping systems in Oxisols of subtropical and tropical agro-ecoregions in Brazil. *Land Degradation & Development*. 2013;543:531–543.

Salvo LP Di, Ferrando L, Fernández-scavino A, Salamone IEG De. Microorganisms reveal what plants do not : wheat growth and rhizosphere microbial communities after *Azospirillum brasilense* inoculation and nitrogen fertilization under field conditions. *Plant Soil*. Springer; 2018;

Sasse J, Martinoia E, Northen T. Feed Your Friends: Do Plant Exudates Shape the Root Microbiome? *Trends Plant Science*. Elsevier Ltd; 2018;23:25–41.

Schmidt H, Eickhorst T. Detection and quantification of native microbial populations on soil-grown rice roots by catalyzed reporter deposition- fluorescence in situ hybridization. *FEMS Microbiol Ecology*. 2013;87:390–402.

Schmidt MWI, Torn MS, Abiven S, Dittmar T, Guggenberger G, Janssens IA, Kleber M, Kögel-Knabner I, Lehmann J, Manning DAC, Nannipieri P, Rasse DP, Weiner S, Trumbore SE. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*. 2011;478:49–56.

Silva AP, Babujia LC, Franchini JC, Souza RA, Hungria M. Microbial biomass under various soil- and crop-management systems in short- and long-term experiments in Brazil. *Field Crops Research*. Elsevier B.V.; 2010;119:20–26.

Six J, Bossuyt H, Degryze S, Denef K. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil Tillage Research*. 2004;79:7–31.

Souza RC, Cantão ME, Vasconcelos ATR, Nogueira MA, Hungria M. Soil metagenomics reveals differences under conventional and no-tillage with crop rotation or succession. *Applied Soil Ecology*. Elsevier B.V.; 2013;72:49–61.

Suela Silva M, Naves Sales A, Teixeira Magalhães-Guedes K, Ribeiro Dias D, Schwan RF. Brazilian cerrado soil actinobacteria ecology. *Biomed research international*. 2013;2013.

Sugiyama A, Ueda Y, Zushi T, Takase H, Yazaki K. Changes in the bacterial community of soybean rhizospheres during growth in the field. *PLoS One*. 2014;9:1–9.

Tian J, Wang J, Dippold M, Gao Y, Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. Biochar affects soil organic matter cycling and microbial functions but does not alter microbial community structure in a paddy soil. *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V.; 2016;556:89–97.

Toumatia O, Compant S, Yekkour A, Goudjal Y, Sabaou N, Mathieu F, Sessitsch A, Zitouni A. Biocontrol and plant growth promoting properties of *Streptomyces mutabilis* strain IA1 isolated from a Saharan soil on wheat seedlings and visualization of its niches of colonization. *South African Journal of Botany*; 2016;105:234–239.

Trivedi P, Rochester IJ, Trivedi C, Van Nostrand JD, Zhou J, Karunaratne S, Anderson IC, Singh BK. Soil aggregate size mediates the impacts of cropping regimes on soil carbon and microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2015;91:169–181.

Turner TR, Ramakrishnan K, Walshaw J, Heavens D, Alston M, Swarbreck D, Osbourn A, Grant A, Poole PS. Comparative metatranscriptomics reveals kingdom level changes in the rhizosphere microbiome of plants. *ISME Journal*. Nature Publishing Group; 2013;7:2248–2258.

van Dam NM, Bouwmeester HJ. Metabolomics in the Rhizosphere: Tapping into Belowground Chemical Communication. *Trends Plant Science*. Elsevier Ltd; 2016;21:256–265.

Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry*. 1987;19:703–707.

Vezzani FM, Anderson C, Meenken E, Gillespie R, Peterson M, Beare MH. The importance of plants to development and maintenance of soil structure, microbial communities and ecosystem functions. *Soil Tillage Research*. Elsevier; 2018;175:139–149.

Vezzani FM, Mielniczuk J. Uma visão sobre qualidade do solo. *Revista de Brasileira Ciência do Solo*. 2009;33:743–755.

Vezzani FM, Mielniczuk J. Agregação e estoque de carbono em Argissolo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2011;35:213–223.

Wang Y, Ji H, Wang R, Guo S, Gao C. Impact of root diversity upon coupling between soil C and N accumulation and bacterial community dynamics and activity: Result of a 30 year rotation experiment. *Geoderma*. 2017;292:87–95.

Ward NL, Challacombe JF, Janssen PH, Henrissat B, Coutinho PM, Wu M, Xie G, Haft DH, Sait M, Badger J, Barabote RD, Bradley B, Brettin TS, Brinkac LM, Bruce D, Creasy T, Daugherty SC, Davidsen TM, Deboy RT, Detter JC, Dodson RJ, Durkin AS, Ganapathy A, Gwinn-giglio M, Han CS, Khouri H, Kiss H, Kothari SP, Madupu R, Nelson KE, Nelson WC, Paulsen I, Penn K, Ren Q, Rosovitz MJ, Selengut JD, Shrivastava S, Sullivan SA, Tapia R, Thompson LS, Watkins KL, Yang Q, Yu C, Zafar N, Zhou L, Kuske CR. Three Genomes from the Phylum Acidobacteria Provide Insight into the Lifestyles of These Microorganisms in Soils. *Applied and Environmental Microbiology*. 2009;75:2046–2056.

White PJ, George TS, Gregory PJ, Bengough AG, Hallett PD, Mckenzie BM. Matching roots to their environment. *Annals of Botany*. 2013;112:207–222.

Winck BR, Vezzani FM, Dieckow J, Favaretto N, Molin R. Carbono e nitrogênio nas frações granulométricas da matéria orgânica do solo, em sistemas de culturas sob plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2014;38:980–989.

Zak D, Holmes W, White D, Peacock A, Tilman D. Plant Diversity, Soil Microbial Communities, and Ecosystem Function: Are There Any Links ? *Ecology*. 2003;84:2042–2050.

Zak C J, Willig RM, Moorhead DL, Wildman HG. Functional Diversity of Microbial Communities: A Quantative Approach. *Soil Biology & Biochemistry*. 1994;26:1101–1108.

1.7. MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela Suplementar 1. Abundância relativa dos filós que compõem a comunidade de bactérias e arqueias do solo sob sucessão e rotação de cultura, na profundidade de 5 a 15 cm, nos períodos de cultivo do trigo em pré-colheita e soja em florescimento, na área experimental da Fundação ABC, Ponta Grossa – PR

Reino	Filo	Sucessão		Rotação		Média
		Trigo *	Soja **	Trigo	Soja	
		%				
Bactérias	<i>Proteobacteria</i>	29,9	28,7	30,7	30,1	29,9
Bactérias	<i>Actinobacteria</i>	20,0	17,0	20,3	16,9	18,5
Bactérias	<i>Acidobacteria</i>	15,3	17,1	15,1	17,4	16,2
Bactérias	<i>Chloroflexi</i>	6,4	6,9	6,5	6,6	6,6
Bactérias	<i>Verrucomicrobia</i>	4,8	6,1	4,5	5,7	5,2
Bactérias	<i>Gemmatimonadetes</i>	4,3	4,3	4,8	4,2	4,4
Bactérias	<i>Planctomycetes</i>	4,9	4,4	4,6	4,5	4,6
Bactérias	<i>Firmicutes</i>	2,8	2,7	2,4	2,5	2,6
Bactérias	<i>AD3</i>	2,1	3,0	2,2	3,3	2,6
Bactérias	<i>Nitrospirae</i>	2,5	2,3	2,2	2,1	2,3
Bactérias	<i>WS3</i>	1,8	2,2	1,5	1,5	1,7
Arqueias	<i>Crenarchaeota</i>	1,2	1,1	1,3	1,1	1,2
Bactérias	<i>Bacteroidetes</i>	0,9	0,7	1,0	0,7	0,8
Bactérias	<i>GAL15</i>	0,4	0,5	0,3	0,5	0,4
Bactérias	<i>Armatimonadetes</i>	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Bactérias	<i>Chlamydiae</i>	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Bactérias	<i>TM6</i>	0,3	0,2	0,2	0,2	0,2
Bactérias	<i>Elusimicrobia</i>	0,2	0,3	0,2	0,2	0,2
Arqueias	<i>Euryarchaeota</i>	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1
Bactérias	<i>WPS-2</i>	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
Bactérias	<i>Chlorobi</i>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Bactérias	<i>Cyanobacteria</i>	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Bactérias	<i>OD1</i>	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Bactérias	<i>Spirochaetes</i>	0,0	0,1	0,0	0,1	0,0
	Total	98,8	98,7	98,8	98,5	98,7
	Bactérias	97,5	97,4	97,4	97,3	97,4
	Arqueias	1,3	1,2	1,4	1,2	1,3

* cultivo do trigo em pré-colheita; ** cultivo da soja em florescimento.

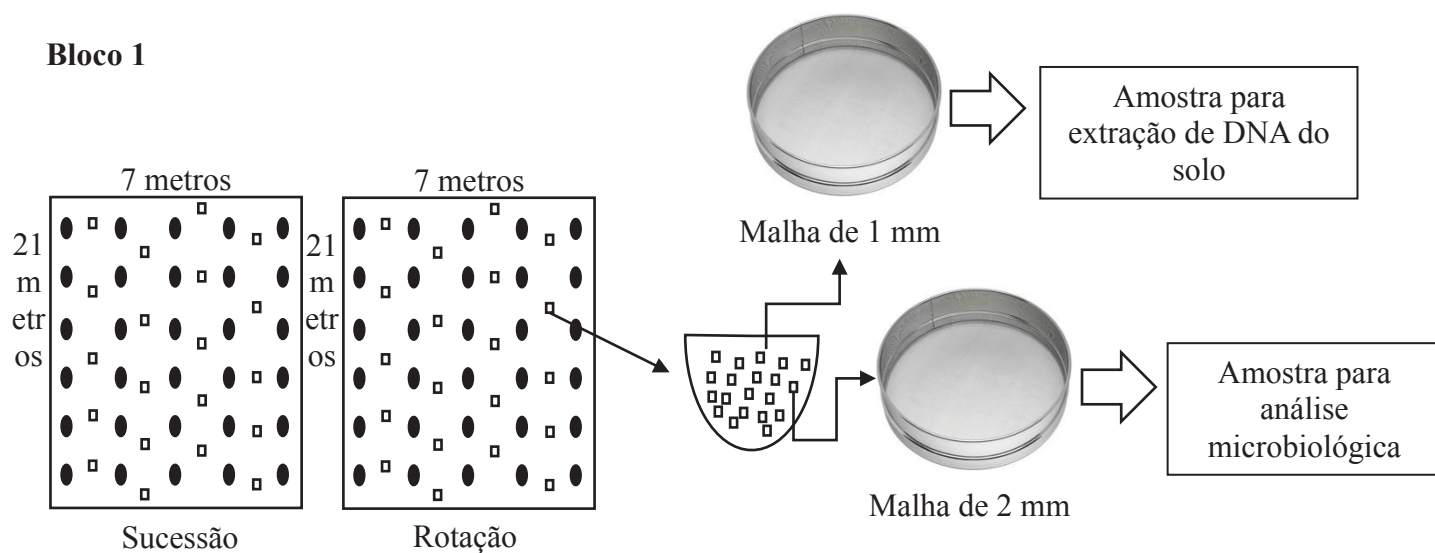
Bloco 1

Figura suplementar 1. Esquema explicativo da coleta de solo para análises microbiológicas e para extração de DNA do solo em um dos blocos do experimento. Os círculos (●) representam as plantas e os quadrados (◻) o local de coleta. O experimento foi composto por quatro blocos, ou seja, repetições de campo.

Tabela Suplementar 2. Abundância relativa dos gêneros que compõem a comunidade de bactérias e arqueias do solo, na profundidade de 5 a 15 cm, nos períodos de cultivo de trigo em pré-colheita e soja em florescimento, na área experimental da Fundação ABC, Ponta Grossa – PR

Reino	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	Trigo* Soja %
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Rhodoplanes</i>	7,61 8,93
Bacteria	Verrucomicrobia	[Spartobacteria]	[Chthoniobacterales]	[Chthoniobacteraceae]	<i>DA101</i>	1,80 2,36
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Streptomycetaceae	<i>Streptomyces</i>	1,21 0,93
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	<i>Bradyrhizobium</i>	1,21 1,09
Bacteria	Verrucomicrobia	[Spartobacteria]	[Chthoniobacterales]	[Chthoniobacteraceae]	<i>Candidatus Xiphinematobacter</i>	1,10 1,79
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	<i>Paenibacillus</i>	1,06 1,05
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Pedomicrobium</i>	0,96 0,81
Aqueias	Crenarchaeota	Thaumarchaeota	Nitrososphaerales	Nitrososphaeraceae	<i>Candidatus Nitrososphaera</i>	0,91 0,55
Bacteria	Nitrospirae	Nitrospira	Nitrospirales	Nitrospiraceae	<i>Nitrospira</i>	0,83 0,56
Bacteria	Acidobacteria	Acidobacteriia	Acidobacteriales	Koribacteraceae	<i>Candidatus Koribacter</i>	0,73 0,98
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micromonosporaceae	<i>Pilimelia</i>	0,71 0,71
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	<i>Bacillus</i>	0,66 0,70
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	<i>Kaistobacter</i>	0,66 0,29
Bacteria	Acidobacteria	Solibacteres	Solibacterales	Solibacteraceae	<i>Candidatus Solibacter</i>	0,56 0,60
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Gemmatales	Gemmataceae	<i>Gemmata</i>	0,46 0,45
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hyphomicrobiaceae	<i>Hyphomicrobium</i>	0,44 0,36
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Pseudonocardiaceae	<i>Pseudonocardia</i>	0,34 0,09
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Mycobacteriaceae	<i>Mycobacterium</i>	0,29 0,19
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetales	Planctomycetaceae	<i>Planctomyces</i>	0,29 0,24
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Phyllobacteriaceae	<i>Mesorhizobium</i>	0,24 0,20
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Pirellulales	Pirellulaceae	<i>Pirellula</i>	0,21 0,15

Continuação da Tabela Suplementar 2.....

Reino	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	Trigo	Soja
						%	
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Legionellales	Coxiellaceae	<i>Aquicella</i>	0,20	0,16
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Alicyclobacillaceae	<i>Alicyclobacillus</i>	0,19	0,15
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Burkholderiaceae	<i>Burkholderia</i>	0,19	0,18
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Nocardioidaceae	<i>Nocardioides</i>	0,16	0,03
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Streptosporangiaceae	<i>Sphaerisporangium</i>	0,15	0,14
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Pirellulales	Pirellulaceae	<i>A17</i>	0,15	0,10
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Caulobacteriales	Caulobacteraceae	<i>Phenyllobacterium</i>	0,15	0,18
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Streptosporangiaceae	<i>Streptosporangium</i>	0,14	0,10
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Xanthobacteraceae	<i>Labrys</i>	0,14	0,13
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Geodermatophilaceae	<i>Geodermatophilus</i>	0,11	0,03
Bacteria	Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Paenibacillaceae	<i>Cohnella</i>	0,11	0,10
Bacteria	Chlamydiae	Chlamydia	Chlamydiales	Parachlamydiaceae	<i>Candidatus Protochlamydia</i>	0,10	0,08
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Hypomicrobiaceae	<i>Devosia</i>	0,10	0,00
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Sinobacteraceae	<i>Steroidobacter</i>	0,10	0,06
Bacteria	Verrucomicrobia	[Pedosphaerae]	[Pedosphaerales]	[Pedosphaeraceae]	<i>Pedosphaera</i>	0,10	0,10
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Streptosporangiaceae	<i>Nonomuraea</i>	0,09	0,09
Bacteria	Proteobacteria	Deltaproteobacteria	Bdellovibrionales	Bdellovibrionaceae	<i>Bdellovibrio</i>	0,09	0,04
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Methylibium</i>	0,09	0,01
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Dokdonella</i>	0,09	0,03
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micromonosporaceae	<i>Dactylosporangium</i>	0,08	0,04
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	<i>Rhizobium</i>	0,08	0,00
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Actinomycetales	Micromonosporaceae	<i>Catellatospora</i>	0,06	0,00

Continuação da Tabela Suplementar 2.....

Reino	Filo	Classe	Ordem	Família	Gênero	Trigo	Soja
						%	
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gamma</i> proteobacteria	Legionellales	Legionellaceae	<i>Legionella</i>	0,06	0,03
Bacteria	<i>Verrucomicrobia</i>	<i>Opitutae</i>	Opitutales	Opitutaceae	<i>Opitutus</i>	0,05	0,01
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	Rhizobiales	Methylocystaceae	<i>Pleomorphomonas</i>	0,04	0,00
Bacteria	<i>Acidobacteria</i>	<i>Acidobacteriia</i>	Acidobacteriales	Acidobacteriaceae	<i>Edaphobacter</i>	0,03	0,05
Bacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	Actinomycetales	Frankiaceae	<i>Frankia</i>	0,03	0,00
Bacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	Actinomycetales	Geodermatophilaceae	<i>Modestobacter</i>	0,03	0,00
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	Burkholderiales	Comamonadaceae	<i>Hylemonella</i>	0,03	0,00
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gamma</i> proteobacteria	Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas</i>	0,03	0,01
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gamma</i> proteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	<i>Rhodanobacter</i>	0,03	0,01
Bacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	Actinomycetales	Intrasporangiaceae	<i>Terracoccus</i>	0,01	0,00
Bacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	Actinomycetales	Microbacteriaceae	<i>Agromyces</i>	0,01	0,00
Bacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	Actinomycetales	Pseudonocardiaceae	<i>Amycolatopsis</i>	0,00	0,01
Bacteria	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	Bacillales	Thermoactinomycetaceae	<i>Shimazuella</i>	0,00	0,01

CAPÍTULO 2. ESTRUTURA E DIVERSIDADE DA COMUNIDADE DE BACTÉRIAS DO SOLO SOB CULTIVO DE SOJA NO CERRADO BRASILEIRO.

RESUMO

A alta temperatura do solo, característica do Bioma Cerrado, aumenta a taxa de decomposição dos resíduos vegetais, por isso é necessário selecionar plantas de cobertura do solo com alta produção de resíduos vegetais. Além disso, os solos são ácidos, com elevado teor de alumínio e baixa saturação de base. Como alternativas, são recomendadas as práticas de sobressemeadura de forrageiras para produção de resíduo vegetal durante o cultivo da soja, e aplicação de calcário para melhorar as propriedades químicas do solo. Tendo em vista, que a cobertura do solo altera os atributos abióticos, temperatura e umidade do solo; a calagem melhora as propriedades químicas do solo; e esses fatores em conjunto tem potencial para selecionar os microrganismos edáficos, o objetivo desse trabalho foi analisar a adição de carbono via resíduo da planta de cobertura e a calagem com a estrutura e diversidade da comunidade de bactérias, que garantem funções distintas ao sistema. O estudo foi realizado na Área experimental da Universidade Federal do Tocantins, na cidade de Gurupi-TO, sob delineamento experimental blocos em parcelas subdivididas, em que, as parcelas foram as plantas de cobertura: *Panicum maximum* cv. Mombaça e *Pennisetum americanum* cv. ADR 300, que testavam a adição de carbono via resíduo da planta de cobertura e, as subparcelas, os tratamentos com e sem calagem. A amostragem foi realizada no florescimento da soja, na profundidade de 5 a 20 cm, descartando, assim, a influência do tecido vegetal depositado na superfície do solo, que estão nos primeiros cinco centímetros. A estrutura e a diversidade da comunidade de bactérias do solo foi analisada por meio da amplificação e sequenciamento da região V4 do gene 16SrDNA no DNA total do solo. Os atributos biológicos, físicos e químicos do solo e o volume de raízes foram quantificados. A estrutura da comunidade de bactérias foi alterada pela planta de cobertura e pela calagem. Os gêneros mais abundantes em todos os tratamentos foram: *Rhodoplanes*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *DA101* e *Candidatus Xiphinematobacter*, *Bradyrhizobium*. O gênero *Bacillus* foi o gênero indicativo do solo sob *P.americanum* e o *Rhodoplanes* e *Bradyrhizobium* do solo sob *P. maximum*. Os gêneros *Catellatospora*, *Nitrospira*, *Balneimonas*, *Mesorhizobium*, *Pedomicrobium*, *Nocardioideis*, *Pirullula* foram os gêneros indicativos do solo que teve aplicação de calcário. Os gêneros *Burkholderia*, *Saccharopolyspora* e *Candidatus Xiphinematobacter* foram os gêneros indicativos do solo sem calcário. Apesar das diferenças qualitativas, as plantas de cobertura não influenciaram os atributos biológicos e químicos do solo. Contudo, a calagem aumentou o nitrogênio da biomassa microbiana, a respiração microbiana, o quociente metabólico, o pH e reduziu o alumínio e o ferro. Por outro lado, o *P.maximum* agiu sobre a produtividade e volume de raízes no solo e a calagem aumentou a riqueza de gêneros de bactérias. A planta de cobertura e a calagem modificaram a estrutura da comunidade de bactérias do solo, mas não agiram sobre a diversidade. A alteração na estrutura da comunidade de bactérias podem ter provocado mudanças na capacidade do solo em sustentar a produtividade das plantas.

Palavra-chave: Plantas de cobertura. Calagem. Riqueza. Diversidade metabólica. *Bradyrhizobium*. *Bacillus*. Resíduos vegetais. 16SrDNA. 515F e 806R.

CHAPTER 2. STRUCTURE AND DIVERSITY OF BACTERIA COMMUNITY IN SOYBEAN SOIL IN THE BRAZILIAN CERRADO.

ABSTRACT

The high soil temperature, which is characteristic of the Brazilian Cerrado Biome, increases the speed of the vegetal residues decomposition rate, therefore there is a need to select plants with high production of vegetal residues to cover the soil. Moreover, these soils are highly acidic, with high aluminum content and low base saturation. As alternatives, overgrazing practices in forage soybean to produce vegetal residue, and liming to improve the chemical properties of the soil are recommended. Considering that the soil cover changes the abiotic attributes, temperature and soil moisture; liming improves soil chemical properties; and these factors select soil microorganisms, the aimed of this work was to relate the carbon addition via the cover plant residue and liming with the structure and diversity of soil bacteria community, which guarantee different functions to the system. The study was carried out in the experimental area of the Federal University of Tocantins, in the city of Gurupi-TO, Brazil, under experimental design blocks in subdivided plots. *Panicum maximum* cv. Mombaça and *Pennisetum americanum* cv. ADR 300 were tested as cover plants in the plots to study the addition of carbon from cover plant waste. Liming and no-liming were tested as subplots. Sampling was carried out in the flowering of the soybean, at depth of 5 to 20 cm, thus discarding the influence of the plant tissue deposited on the soil surface, which occurs in the first five centimeters. Structure and diversity of the soil bacteria community were analyzed by amplifying and sequencing the V4 region of the 16SrDNA gene of total soil DNA. The biological, physical and chemical attributes of soil, and root volume were quantified. The structure of bacteria and archaea community was altered by the cover plant and by liming. The most abundant genera in all treatments were: *Rhodoplanes*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *DA101* and *Candidatus Xiphinematobacter*, *Bradyrhizobium*. The genus *Bacillus* was the indicative genus for the soil cultivated with *P.americanum* and the genera *Rhodoplanes* and *Bradyrhizobium* for *P. maximum*. The genera *Catellatospora*, *Nitrospira*, *Balneimonas*, *Mesorhizobium*, *Pedomicrobium*, *Nocardioides*, *Pirullula* were the indicative genera for the liming soil. *Burkholderia*, *Saccharopolyspora* and *Candidatus Xiphinematobacter* were indicative genera of the no-liming soil. Despite the qualitative differences, the cover plants did not influence the biological and chemical attributes of the soil. Nevertheless, liming increased the microbial biomass nitrogen, microbial respiration, metabolic quotient, pH and reduced aluminum and iron content. On the other hand, *P. maximum* affected the productivity and volume of roots and liming increased the genera richness of bacteria. The cover plant and liming modified the structure of bacteria community in the soil, though did not in diversity. The change in the community structure of bacteria and archaea may have caused changes in soil capability to sustain plant productivity.

Key words: Cover plants. Liming. Richness. Metabolic diversity. *Bradyrhizobium*. *Bacillus*. Vegetable waste. 16SrDNA. 515F e 806R.

2.1. INTRODUÇÃO

Os solos do bioma Cerrado são altamente intemperizados, ácidos, com pouca matéria orgânica e de baixa fertilidade natural (Cunha et al., 2008). Por isso, são considerados solos frágeis e com alta probabilidade de degradação. A região é caracterizada por altas temperaturas do ar durante o ano e com períodos de ocorrência de chuvas intensas, que aceleram o processo de decomposição do material vegetal. Além disso, os longos períodos sem precipitação limitam a produção de matéria vegetal após a colheita da soja (outono/primavera), resultando em baixa cobertura de solo e alta exposição aos processos erosivos.

Neste contexto, Pacheco et al. (2009) tem recomendado a sobressemeadura de plantas de cobertura nos estádios fenológicos R5, R6 ou R7 da soja, momento no qual tem umidade suficiente para a germinação e desenvolvimento inicial da planta de cobertura (Pacheco et al., 2009), possibilitando a produção de resíduo vegetal. Entretanto, a formação da cobertura do solo depende da espécie vegetal escolhida. O estudo realizado por Andrade et al. (2017), na mesma área experimental desse trabalho, identificou que o *Panicum maximum* cv. Mombaça é eficiente no acúmulo de matéria seca sobre o solo, quando cultivado em sobressemeadura na soja.

A calagem é uma técnica importante para o cultivo de plantas. A aplicação de calcário melhora os atributos químicos do solo, tais como a saturação de base, a capacidade de troca catiônica, os teores de cálcio, magnésio e potássio; e, reduz o teor de Al^{+3} que é um metal que inibe o crescimento das raízes e aumenta o pH do solo. Existem evidências que o pH do solo pode ser um preditor da diversidade e da estrutura da comunidade microbiana do solo (Fierer e Jackson, 2006; Cao et al., 2016). A calagem também contribui para o aumento da produção de resíduos vegetal que é fundamental para a manutenção da cobertura do solo. A cobertura garante ao sistema solo vários benefícios, tais como, redução da temperatura na camada de 0 a 0,30 m do solo (Kader et al., 2017) e da evapotranspiração, permite a proteção da superfície do solo do impacto da gota da chuva e, consequentemente, reduz o selamento e o escoamento superficial (Merten et al., 2015). A cobertura vegetal gera um microclima adequado ao crescimento da microbiota edáfica. O aumento de resíduos vegetais está positivamente relacionado com o aumento do estoque de COT do solo (Da Silva et al.,

2004), que também é considerado um atributo que seleciona populações microbianas (Trivedi et al., 2015).

Os benefícios da planta de cobertura vão além. A adição de compostos orgânicos ao solo via resíduos vegetais da parte aérea e exsudatos radiculares (Lynch e Whipps, 1990); e, ainda, a arquitetura do sistema radicular (Jin et al., 2017) contribuem de forma significativa para a construção de um ambiente favorável ao desenvolvimento das plantas e organismos do solo, ao longo do tempo. Os compostos orgânicos participam do processo de formação e estabilidade de agregados do solo (Tisdall e Oades, 1982; Six et al., 2004), mobilizam temporariamente nutrientes solúveis (Carvalhais et al., 2011), aumentam a resistência/tolerância da planta a metais pesados (Li et al., 2017; Fu et al., 2018) pela mobilização dos mesmos (Potysz et al., 2017), modulam as interações entre plantas e microrganismos (van Dam e Bouwmeester, 2016), alteram os fluxos de gases de efeito estufa (Girkin et al., 2018), inibem a nitrificação (Coskun et al., 2017) e são a principal fonte de alimento para os microrganismos (Gregory, 2006; Vezzani et al., 2018). E tanto o teor de carbono orgânico total (COT) do solo quanto a sua fração, os compostos orgânicos, agem sob a estrutura da microbiota do solo (Lammel et al., 2015; Trivedi et al., 2015).

Além disso, o sistema radicular das plantas de cobertura pode ter ação sobre a diversidade da comunidade microbiana, porque as raízes das plantas são fundamentais para a formação de macroagregados estáveis, estruturas mais complexas e diversas em relação aos microagregados (Lupwayi et al., 2001; Vezzani e Mielniczuk, 2011). Existem relatos de que a estrutura microbiana difere entre os macro e microagregados do solo (Blaud et al., 2012; Davinic et al., 2012; Bach et al., 2018). Os macroagregados são formados pelo enovelamento de partículas simples e de microagregados durante o crescimento das raízes (Tisdall e Oades, 1982). A formação de macroagregados estáveis melhora a estrutura do solo (Vezzani e Mielniczuk, 2011). Solos bem estruturados apresentam diferentes nichos que apoiam e sustentam as diversas atividades metabólicas das comunidades microbianas (Beare et al., 1995; Vos et al., 2013; Gupta e Germida, 2015b). As características abióticas entre os nichos formados são diferentes (Blaud et al., 2012), por isso, as raízes das diferentes espécies ao longo do tempo tem potencial para favorecer a diversidade microbiana.

Os microrganismos edáficos são a base para o funcionamento do solo, pois eles estão envolvidos nos processos de ciclagem de nutriente e degradação de substâncias xenobióticas, na formação e estabilidade de agregados, no crescimento das plantas, por meio de liberação de hormônios (Blasco et al., 1995; Kennedy, 1999; Zilli et al., 2003; Bashan et al., 2014; Pagé et al., 2015) e outras funções.

O sistema radicular vegetal pode aumentar a variabilidade estrutural do solo e assim diversificar a comunidade microbiana edáfica, e as funções exercidas pela mesma no solo (Mendes et al., 2015). A diversidade funcional do solo pode tamponar distúrbios externos ao ecossistema (Perry et al., 1989) e, mesmo assim, manter as funções do solo (Zilli et al., 2003; Mendes et al., 2015), o que contribui para a qualidade do sistema solo.

Portanto, o objetivo desse trabalho foi relacionar a adição de carbono via resíduo da planta de cobertura e a calagem com a estrutura e a diversidade da comunidade de bactérias do solo, que garantem funções distintas ao sistema.

2.2. MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1. Área, delineamento experimental

O experimento foi instalado na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Tocantins, no município de Gurupi-TO, sob as coordenadas 11°43'45" S e 49°04'07" N, e altitude de 278 m. O clima predominante da região do tipo Aw (Alvares et al., 2013), caracterizado como clima tropical úmido, com inverno seco e chuvas máximas no verão, temperatura média anual de 26,1°C, e precipitação média anual acumulada de 1.688 mm (Figura Suplementar 1). O solo foi classificado em Latossolo Amarelo Distrófico de textura média (De Andrade et al., 2017).

O experimento foi implantado no verão de 2012, em blocos ao acaso, com quatro repetições. As propriedades químicas do solo, quando o experimento foi instalado foram: pH (CaCl₂) = 3,98; Al = 0,75 cmol_c dm⁻³; Ca = 0,17 cmol_c dm⁻³; Mg = 0,06 cmol_c dm⁻³; P = 1,09 mg dm⁻³; K = 32,0 mg dm⁻³; Cu = 0,90 mg dm⁻³; Zn = 0,30 mg dm⁻³; Mn = 12,20 mg dm⁻³; e matéria orgânica = 15,40 g dm⁻³ (De Andrade et al., 2017). Antes da instalação do experimento, a área era composta por pastagem degradada, na qual foi dessecada para a semeadura direta da soja. Os tratamentos consistiram em plantas de cobertura: *Panicum maximum* cv. Mombaça (alta adição de

C) e *Pennisetum americanum* cv. ADR 300 (baixa adição de C); cultivadas em solos com adição ou não de calcário para correção de acidez do solo. A sobressemeadura das plantas de cobertura, em todas as safras, foi realizada quando a soja atingiu o estágio fenológico R5. Outras informações sobre a instalação e a condução do experimento, assim como, a metodologia utilizada para o cálculo da produtividade da soja podem ser obtidas no trabalho De Andrade et al. (2017).

2.2.2. Amostragem do solo

A amostragem do solo foi realizada em pleno florescimento da soja (dia 4/01/2017, perfazendo 4 anos de instalação do experimento), a cinco centímetros do caule da cultura, na profundidade de 5 a 20 centímetros, descartando, assim, a influência do tecido vegetal depositado na superfície do solo, que estão nos primeiros cinco centímetros. As coletas de solo para as análises químicas e biológicas foram compostas por três subamostras feitas com trado de caneco (Böhm, 1979), homogeneizadas, acondicionadas em sacos plásticos, transportadas em caixa térmica e armazenadas em ambiente refrigerado a 4 °C até o momento das análises, mas não por mais de 30 dias. Uma fração de cada amostra composta foi peneirada em malha de 1 mm, congelada a -80 °C e, posteriormente, a extração de DNA foi realizada. Além disso, foram coletados dois monólitos de solo de 10 cm x 10 cm x 10 cm por parcela, na profundidade de 5 a 20 cm, para análise da distribuição dos agregados (Figura suplementar 2 – apresenta o esquema ilustrativo da coleta).

2.2.3. Coleta de raízes

A coleta de raízes também foi a cinco centímetros do caule da soja, conforme o método de amostragem pelo trado de caneco para raízes (Böhm, 1979), na profundidade de 5 a 20 cm em duas replicatas. O volume de solo amostrado foi de 266,9 cm³. Após a coleta, as amostras de solo contendo as raízes foram acondicionadas em sacos plásticos, transportadas em caixa térmicas e armazenadas em ambiente refrigerado (temperatura de 4 °C) até o momento das análises. Os atributos comprimento, volume, diâmetro médio e a área superficial radicular foram mensurados por meio do software WinRhizo[®], e o CER (comprimento específico radicular) foi obtido pela relação entre o comprimento radicular e a massa seca (Atkinson, 2000). A massa seca das raízes foi

obtida após a secagem em estufa de circulação fechada por 48 h em 45 °C. (Figura suplementar 2 – apresenta o esquema ilustrativo da coleta).

2.2.4. Análises e determinações

2.2.4.1. *Análise química e microbiológica do solo*

A análise química do solo seguiu a metodologia proposta por Marques e Motta (2003), com determinação de fósforo disponível (P), potássio (K^+), cálcio (Ca^{+2}), magnésio (Mg^{+2}) trocáveis, alumínio trocável (Al^{+3}) e pH em $CaCl_2$. O carbono orgânico total (COT) e o nitrogênio total (NT) foram determinados por combustão seca em analisador elementar (CHNOS) (Elementar, Vario El III).

O carbono e nitrogênio da biomassa microbiana (C-BM e N-BM) foram obtidos, respectivamente, pelo método de fumigação-extração de Vance et al. (1987) e Brookes et al. (1985), com as modificações propostas por Franchini et al. (2007). Os valores de C-BM e N-BM foram estimados a partir das diferenças entre as amostras fumigadas e não fumigadas, empregando os coeficientes de 0,41 no cálculo de C-BM (Anderson e Domsch, 1978) e de 0,54 no de N-BM (Brookes et al., 1985). A respiração microbiana (RM) foi determinada pelo método de Anderson (1982) e expressa em $\mu g \text{ C-CO}_2 \text{ g solo seco}^{-1} \text{ h}^{-1}$. O quociente metabólico foi obtido pela razão entre RM e C-BM ($\mu g \text{ C g}^{-1}$ de solo), e expresso em $\mu g \text{ C-CO}_2 \mu g \text{ C-BM}^{-1} \text{ h}^{-1}$. O quociente microbiano foi expresso em % obtido pela equação abaixo:

$$qMIC = (C-BM / COT) / 10,$$

O N mineralizável (N min) do solo foi extraído com solução de KCl 2 mol L^{-1} de 10 g de solo úmido. O N- NO_3 foi analisado pelo método de ultravioleta com adição de Zn adaptado de Heinzmann et al. (1984) e Norman e Stucki (1981) e o e N- NH_4 pelo método do Fenato (adaptado de APHA, 1995). O nitrogênio total foi considerado a soma das duas frações (N- NO_3 e N- NH_4) antes e depois da incubação do solo a 25 ± 1 °C no escuro por 8 dias. Os valores de N min foram obtidos pela diferença de N total antes e depois da incubação e expressos em $\mu g \text{ N g}^{-1}$ de solo.

Todos os resultados foram corrigidos conforme o conteúdo de umidade gravitacional, que foi determinado paralelamente a cada procedimento.

2.2.4.2. Diversidade metabólica

A atividade metabólica edáfica foi obtida por meio do crescimento de uma suspensão de microrganismos extraída do solo em meio de cultura líquido com fontes variáveis de C, na presença do indicador cloreto 2,3,5- trifenil tetrazólio, seguindo o princípio da metodologia proposta por Bochner et al. (2001). A suspensão dos microrganismos foi extraída de 10 g de solo úmido. A solução extratora foi 90 mL de NaCl 0,145 mol L⁻¹ esterilizada, agitação (200 rpm) por 30 min e decantação por 10 minutos. O meio de cultura líquido foi produzido conforme Parkinson et al. (1971) e continha por litro: 1,0 g de K₂HPO₄, 0,2 g de MgSO₄.7H₂O, 1,0 g de CaCl₂.H₂O, 0,1 g de NaCl, 0,5 g de KNO₃, 0,5 g de asparagina e fontes variáveis de C. As fontes variáveis de C foram dois aminoácidos (L – alanina, L – arginina), quatro carboidratos (L – arabinose, D – fructose, D – galactose, D – glicose) e cinco ácidos orgânicos (ácido málico, ácido cítrico, ácido oxálico, ácido alfa-cetoglutárico e ácido tartárico), nas respectivas concentrações: 15 mmol L⁻¹ de aminoácidos, 75 mmol L⁻¹ de carboidrato, e 100 mmol L⁻¹ de ácido orgânicos (Stevenson et al., 2004). As soluções dos meios de cultura tiveram pH ajustado entre 5,8-6,0 com NaOH 1 mol L⁻¹ ou HCl mol L⁻¹, e foram todas autoclavadas antes do uso.

A incubação foi feita em microplacas contendo em cada poço 100 µL de meio de cultura líquido com a fonte variável de C, 100 µL de solução de 2,3,5- trifenil tetrazólio 0,1 % (concentração final) e 100 µL da suspensão de microrganismos extraída do solo. As placas foram incubadas no escuro a 25 °C por 72 h. A absorbância das reações de incubação foram medidas em um leitor de microplacas (Biotek, ELX 800 Instruments, Inc, Winooski, VE, USA) a 595 nm. Os valores de absorbância foram utilizados para calcular o desenvolvimento médio de cor (sigla em inglês, AWCD), que indica a intensidade de utilização da fonte de C, com a seguinte equação proposta por Garland e Mills (1991):

$$AWCD = \Sigma (C_i - r) / n$$

onde, C_i é a absorbância de cada poço; r é a absorbância do poço de controle (meio de cultura, sem a fonte de C); e, n o número de fontes de C utilizadas. Os valores de “ $C_i - r$ ” negativos foram ajustados para zero (Tian et al., 2016).

Os valores de absorvância também foram utilizados para calcular a diversidade metabólica, por meio do índice de diversidade de Shannon, H' , com a equação proposta por Zak et al. (1994):

$$H' = - \sum [p_i (\ln p_i)]$$

onde, $p_i = (C_i - r) / \sum (C_i - r)$.

2.2.4.3. Extração e sequenciamento do 16 S rRNA

Foi realizada uma amostra por parcela, totalizando quatro repetições por tratamento. O DNA do solo foi extraído com PowerLyzer PowerSoil DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, Carlsbad, CA), seguindo instruções do fabricante. A qualidade do DNA extraído foi avaliada por eletroforese em gel de agarose 0,8 % (p/v), e quantificado por espectrofotometria em Nanodrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Inc, Wilmington, USA). Vinte nanogramas de DNA foram utilizados como molde para amplificação da região V4 do gene 16SrRNA, com os primers 515F e 806R e a KlenTaq (Caporaso et al., 2012). Os produtos da PCR foram quantificados com Qubit dsDNA HS kit (Invitrogen), e sequenciados com o 500V2 Sequencing Kit (Illumina) em Illumina MiSeq (5200 Illumina Way, Inc, California, U.S.A.). As sequências de DNA foram analisadas na plataforma QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) versão 1.8.0 (Caporaso et al., 2010). As sequências foram agrupadas em Unidades Operacionais Taxonômicas (sigla em inglês OTU) e em cinco níveis taxonômicos: filo, classe, ordem, família e gênero de bactérias, considerando 97 % de similaridade com o banco de dados SILVA (Quast et al., 2013) e linha de corte de 12,5 mil sequências.

2.2.4.5. Distribuição de agregados estáveis em água em classes de tamanho e diâmetro médio ponderado via úmida (DMPu)

O solo coletado em monólitos foi desagregado manualmente, respeitando os pontos de fraqueza, e passado na peneira de 8 mm de diâmetro. Posteriormente, os agregados foram secos ao ar e à sombra, embalados e armazenados até o momento das análises. O procedimento analítico foi realizado conforme Elliott (1986), submetendo o conjunto de peneiras imersas em água (sem umedecimento prévio das amostras - processo *slaking*) à agitação vertical no aparelho de Yoder (1936) por 10 minutos. O solo retido em cada peneira foi seco a 105 °C durante 24 h.

Essa metodologia serviu para determinação da massa de solo seco e a porcentagem de agregados estáveis em cada uma das classes de diâmetro de agregados: 2-0,250; 0,250-0,053; < 0,053 mm. Finalmente, esses dados serviram para o cálculo do Diâmetro Médio Ponderado via úmida (DMPu), segundo o método de (Kemper e Rosenau, 1986).

2.2.5. Análises Estatísticas

As variáveis quantitativas foram submetidas ao teste de Shapiro wilk para confirmação das premissas da análise de variância (ANOVA). Com base nesse teste, atributos de raízes foram transformados com raiz quadrada. A ANOVA foi aplicada seguindo os preceitos de delineamento de blocos ao acaso em esquema de parcelas subdivididas, considerando parcelas as plantas de cobertura (*Panicum maximum* cv. Mombaça e *Pennisetum americanum* cv. ADR 300), que testavam a adição de carbono via resíduo da planta de cobertura, e, subparcelas os tratamentos (com e sem calcário), que testavam ação da calagem, e quatro repetições. E as médias, quando significativas, foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

A análise PERMANOVA foi aplicada para determinar a ação da planta de cobertura do solo e da calagem sob a comunidade de bactérias do solo. Os índices de riqueza, diversidade “Shannon” e “Simpson” e equitabilidade “Pielou” dos gêneros de bactérias foram calculados com uso do pacote vegan (Oksanen et al., 2017).

Foi determinado o índice de valor indicativo (IndVal) proposto por Dufrêne e Legendre (1997) que nesse estudo tem a finalidade de identificar os gêneros ou um conjunto de gêneros característicos do solo amostrado. O IndVal foi determinado com base na abundância relativa e na ocorrência do gênero dentro de um determinado conjunto de amostras, respectivamente a especificidade e a fidelidade do gênero as propriedades do solo amostrado. O valor do IndVal varia entre 0 (quando o gênero está ausente em todas as repetições amostradas de um mesmo tratamento) e 1 (quando o gênero está presente e com alta abundancia em todas as repetições amostrada de um mesmo tratamento). A significância estatística dos valores do IndVal foi avaliada utilizando randomização com 9999 permutas (Legendre e Legendre, 2012).

Todas as análises foram realizadas no ambiente R (RStudio Team, 2016). Os pacotes estatísticos utilizados para ANOVA, PERMANOVA e IndVal foram,

respectivamente: ExpDes (Ferreira et al., 2013), vegan (Oksanen et al., 2017), e labdsv (Roberts, 2016).

2.3. RESULTADOS

As plantas de cobertura e a calagem tiveram ação sobre a estrutura da comunidade de bactérias, porém, sem interação entre os fatores. Esse comportamento foi identificado em nível de filo (planta de cobertura $p=0,014$, calagem $p=0,009$, interação $p=0,215$), classe (planta de cobertura $p=0,045$, calagem $p=0,001$, interação $p=0,498$) e gênero (planta de cobertura $p=0,006$, calagem $p=0,007$, interação $p=0,492$). Em nível de ordem (calagem $p=0,005$, planta de cobertura $p=0,223$, interação $p=0,149$) e família (calagem $p=0,005$, planta de cobertura $p=0,313$, interação $p=0,204$) somente a calagem que alterou a estrutura da comunidade de bactérias.

Independente dos tratamentos, os táxons mais abundantes em todas as amostras analisadas foram *Acidobacteria* (49 %), *Proteobacteria* (18 %), *Firmicutes* (8 %), *Chloroflexi* (6 %), *Acidobacteria* (5 %), *AD3* (4 %), *Planctomycetes* (3 %) e *Verrucomicrobia* (2 %) em nível de filo (Tabela complementar 1); em nível de classe foram *Thermoleophilia* (32 %), *Alphaproteobacteria* (14 %) e *Actinobacteria* (11 %); ordens foram: *Acidobacteriales* (23 %), *MND1* (12 %), *Clostridiales* (9 %), *Solibacterales* (9 %); família: *Conexibacteraceae* (20 %), *Gaiellaceae* (9 %), *Hyphomicrobiaceae* (7 %) e; os gêneros com abundância maior, independente dos tratamentos, foram: *Rhodoplanes*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *DA101* e *Candidatus Xiphinematobacter*, *Bradyrhizobium* (Tabela 1).

Segundo o índice IndVal, que considera a abundância relativa e a ocorrência do gênero em todas as repetições do solo amostrado, indica o gênero *Bacillus* (IndVal=0,55; $p=0,028$) para solo sob a cobertura *Pennisetum americanum* cv. ADR 300 (milheto). Por outro lado, os gêneros indicativos do solo sob *Panicum maximum* cv. Mombaça foram: *Bradyrhizobium* (IndVal=0,55; $p=0,023$) e *Rhodoplanes* (IndVal=0,53; $p=0,035$). Em relação à calagem, independentemente da planta de cobertura, para o solo que teve aplicação de calcário os gêneros indicativos foram *Catellatospora* (IndVal=0,75; $p=0,004$), *Nitrospira* (IndVal=0,75; $p=0,006$), *Balneimonas* (IndVal=0,73; $p=0,033$), *Mesorhizobium* (IndVal=0,70; $p=0,037$), *Pedomicrobium* (IndVal=0,68; $p=0,010$), *Nocardioideis* (IndVal=0,63; $p=0,033$),

Pirullula (IndVal=0,63; $p=0,026$). E no solo sem aplicação de calcário os gêneros indicativos foram *Burkholderia* (IndVal=0,75; $p=0,012$), *Saccharopolyspora* (IndVal=0,60; $p=0,023$) e *Candidatus Xiphinematobacter* (IndVal=0,5; $p=0,005$).

Tabela 1. Abundância relativa dos gêneros de bactérias do solo sob cobertura de *P. maximum* cv. Mombaça e *P. americanum* cv. ADR 300 (milheto) e calagem, na profundidade de 5 a 20 cm, no período de florescimento da soja na área experimental da Universidade Federal do Tocantins, campus Gurupi-TO.

Gêneros	<i>P. maximum</i> cv. Mombaça		<i>P. americanum</i> cv. ADR 300	
	Sem calcário	Com calcário	Sem calcário	Com calcário
	%			
<i>Rhodoplanes</i>	7,28	7,75	6,43	6,80
<i>Bacillus</i>	2,80	3,20	3,70	3,55
<i>Streptomyces</i>	1,23	1,58	1,35	1,35
<i>DA101</i>	0,95	1,15	1,08	1,20
<i>Candidatus Xiphinematobacter</i>	1,35	1,00	1,15	0,93
<i>Bradyrhizobium</i>	1,13	0,93	0,85	0,83
<i>Kaistobacter</i>	0,58	0,78	0,63	0,63
<i>Paenibacillus</i>	0,58	0,60	0,63	0,58
<i>Mycobacterium</i>	0,48	0,58	0,45	0,48
<i>Candidatus Nitrososphaera</i>	0,35	0,48	0,38	0,35
<i>Saccharopolyspora</i>	0,58	0,48	0,63	0,35
<i>Alicyclobacillus</i>	0,53	0,45	0,65	0,45
<i>Ammoniphilus</i>	0,40	0,45	0,55	0,58
<i>Candidatus Koribacter</i>	0,48	0,35	0,40	0,35
<i>Pedomicrobium</i>	0,13	0,35	0,18	0,28
<i>Pilimelia</i>	0,18	0,30	0,23	0,33
<i>Conexibacter</i>	0,38	0,30	0,40	0,35
<i>Geodermatophilus</i>	0,25	0,28	0,28	0,25
<i>Gemmata</i>	0,10	0,20	0,18	0,23
<i>Candidatus Solibacter</i>	0,18	0,15	0,18	0,13
<i>Pseudonocardia</i>	0,13	0,15	0,05	0,15
<i>Cohnella</i>	0,15	0,15	0,15	0,13
<i>Balneimonas</i>	0,08	0,13	0,03	0,15
<i>Mesorhizobium</i>	0,05	0,13	0,05	0,10
<i>Kutzneria</i>	0,10	0,10	0,13	0,10
<i>Catellatospora</i>	0,00	0,10	0,00	0,08
<i>Flavisolibacter</i>	0,03	0,10	0,10	0,05
<i>Phenylobacterium</i>	0,10	0,10	0,05	0,10
<i>Nocardioide</i>	0,00	0,08	0,00	0,05

Continuação da Tabela 1....

Gêneros	<i>P. maximum</i> cv. Mombaça		<i>P. americanum</i> cv. ADR 300	
	Sem calcário	Com calcário	Sem calcário	Com calcário
	%			
<i>Sinomonas</i>	0,03	0,00	0,03	0,00
<i>Aneurinibacillus</i>	0,00	0,00	0,03	0,00
<i>Agrobacterium</i>	0,00	0,00	0,00	0,03
<i>Sphingomonas</i>	0,00	0,00	0,00	0,03
<i>Pedospaera</i>	0,00	0,00	0,03	0,03
<i>Amycolatopsis</i>	0,00	0,08	0,05	0,00
<i>Brevibacillus</i>	0,05	0,08	0,10	0,10
<i>Nitrospira</i>	0,00	0,08	0,00	0,08
<i>Pirellula</i>	0,00	0,08	0,00	0,05
<i>Dactylosporangium</i>	0,00	0,05	0,03	0,08
<i>Actinomycetospora</i>	0,08	0,05	0,00	0,03
<i>Actinomadura</i>	0,03	0,05	0,05	0,10
<i>Burkholderia</i>	0,10	0,05	0,13	0,03
<i>Anaeromyxobacter</i>	0,05	0,05	0,03	0,03
<i>Steroidobacter</i>	0,00	0,05	0,00	0,03
<i>Saccharothrix</i>	0,00	0,03	0,00	0,00
<i>Kribbella</i>	0,00	0,03	0,00	0,00
<i>Nonomuraea</i>	0,03	0,03	0,00	0,03
<i>Sphaerisporangium</i>	0,00	0,03	0,00	0,00
<i>Anoxybacillus</i>	0,00	0,03	0,05	0,03
<i>Clostridium</i>	0,00	0,03	0,00	0,00
<i>Planctomyces</i>	0,00	0,03	0,00	0,00
<i>Devosia</i>	0,00	0,03	0,00	0,03
<i>Methylobacterium</i>	0,05	0,03	0,00	0,03
<i>Edaphobacter</i>	0,05	0,00	0,00	0,00
<i>Terracoccus</i>	0,00	0,00	0,00	0,03

A planta de cobertura do solo e a calagem não alteraram a proporção de agregados estáveis do solo e o diâmetro médio ponderado via úmida (DMPu) [Tabela 2]. A porcentagem de macroagregados do solo (somatório das classes de 8 mm a 0,250 mm, Tabela 2) foi em média 87 e 85 % sob solo com *P. maximum* cv. Mombaça e *P. americanum* cv. ADR 300, respectivamente. O DMPu oscilou, em média, de 1,5 a 1,7 mm entre os tratamentos (Tabela 2). O valor mais alto do DMPu (1,7 mm) foi identificado nos solos em que o calcário foi adicionado (Tabela 2).

A planta de cobertura não influenciou os atributos biológicos e químicos do solo, contudo o efeito da calagem aumentou o nitrogênio da biomassa microbiana, a respiração microbiana, o quociente metabólico, o pH e reduziu o alumínio e o ferro (Tabela 3). Houve interação entre a planta de cobertura e a calagem para o COT (Tabela 3). O maior valor de COT foi no solo que recebeu calcário sob *P. maximum* cv. Mombaça (Tabela 3). O *P. maximum* cv. Mombaça também contribuiu para o aumento do volume de raízes da soja (Tabela 3).

Tabela 2. Proporção de agregados de solo estáveis em água por classe de tamanho e diâmetro médio ponderado obtido via úmida (DMPu). Solo sob cobertura de *P. maximum* cv. Mombaça e *P. americanum* cv. ADR 300 (milheto) e calagem, na profundidade de 5 a 20 cm, no período de florescimento da soja na área experimental da Universidade Federal do Tocantins, campus Gurupi-TO.

Planta de Cobertura	Calcário	Classe de tamanho (mm)				DMP
		8 a 2	2 a 0,250	0,250 a 0,053	<0,053	
		-----%				mm
<i>P. maximum</i> cv. Mombaça	Sem	30,0 ^{ns}	55,2 ^{ns}	11,0 ^{ns}	3,7 ^{ns}	1,5 ^{ns}
	Com	29,0	59,4	10,7	0,9	1,6
<i>P. americanum</i> cv. ADR 300	Sem	29,8	51,9	16,5	1,9	1,5
	Com	34,8	53,4	10,2	1,6	1,7

^{ns} efeito não significativo entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5 %.

Os ácidos orgânicos foram o compostos que deram suporte para a atividade metabólica da comunidade microbiana do solo com aplicação de calcário e com a planta de cobertura (Figura 2), porém, sem diferença estatística. Assim, a diversidade metabólica do solo não diferiu com a aplicação de calcário e com a planta de cobertura (Tabela 3). A composição dos compostos orgânicos utilizados para avaliar a atividade metabólica da microbiota edáfica também foi semelhante entre os tratamentos (planta de cobertura $p=0,23$, calagem $p=0,62$ interação entre os fatores $p=0,94$).

Apesar da planta de cobertura não ter alterado os atributos do solo (exceto volume de raízes) e a diversidade metabólica da comunidade microbiana, a planta de cobertura teve efeito sobre a produtividade de grãos da soja. O cultivo sobre *P. maximum* cv. Mombaça proporcionou 949 kg ha⁻¹ de grãos a mais, ou seja, aproximadamente 16 sacas de soja por hectare (Tabela 3).

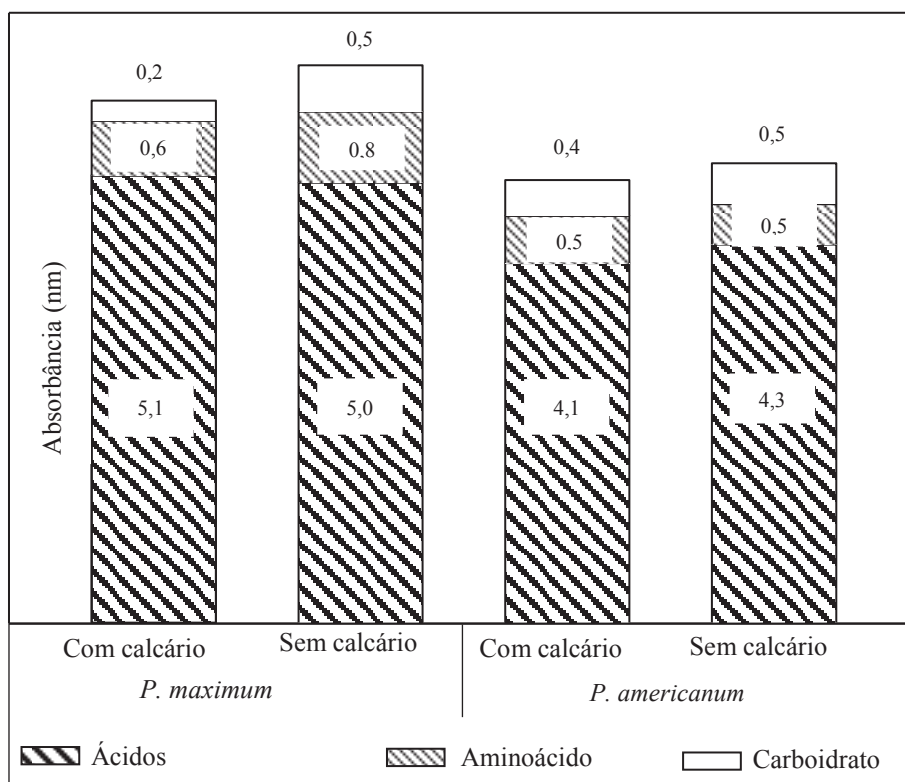


Figura 1. Absorvância dos compostos orgânicos que capacitaram a atividade metabólica da comunidade de bactérias do solo sob cobertura de *Panicum maximum* cv. Mombaça e *Pennisetum americanum* cv. ADR 300 (milheto) e calagem, na profundidade de 5 a 20 cm, no período de florescimento da soja na área experimental da Universidade Federal do Tocantins, campus Gurupi-TO. Maior valor de absorvância indica maior atividade metabólica.

Tabela 3. Atributos do solo, diversidade metabólica, produtividade da soja e índices de riqueza e diversidade de gêneros de bactérias do solo sob cobertura de *Panicum maximum* cv. Mombaça e *Pennisetum americanum* cv. ADR 300 (milheto) e calagem, na profundidade de 5 a 20 cm, no período de florescimento da soja na área experimental da Universidade Federal do Tocantins, campus Gurupi-TO.

Atributos do solo	p > F		<i>P. maximum</i> cv. Mombaça		<i>P. americanum</i> cv. ADR 300	
	Planta de cobertura	Calagem	Interação	Sem calcário	Com calcário	Com calcário
COT (g C dm ⁻³ de solo)	0,49	0,24	0,01	17,49	18,21	17,89
NT (g N dm ⁻³ de solo)	0,97	0,76	0,36	1,50	1,60	1,58
CBM (µg C g ⁻¹ de solo)	0,72	0,74	0,38	80,53	83,42	81,94
NBM (µg N g ⁻¹ de solo)	0,10	0,01	0,22	16,22	24,96	12,99
RM (µg C-CO ₂ g solo seco ⁻¹ h ⁻¹)	0,69	0,04	0,64	1,94	3,84	1,98
qCO ₂ (µg C-CO ₂ µg Cmic ⁻¹ h ⁻¹)	0,90	0,05	0,79	0,03	0,07	0,03
qMic (%)	0,56	0,82	0,69	4,32	3,91	3,51
N min (µg N g de solo ⁻¹)	0,22	0,65	0,13	1,62	1,91	2,06
H ⁺	0,12	0,25	0,67	1,74	1,56	1,81
Atributos químicos						
pH (CaCl ₂)	0,62	0,001	0,26	3,99	4,71	4,07
Alumínio (cmol _c dm ⁻³)	0,70	0,001	0,90	0,45	0,08	0,49
Al+H (cmol _c dm ⁻³)	0,07	0,005	0,39	6,35	4,68	6,58
Cálcio (cmol _c dm ⁻³)	0,29	0,004	0,42	0,35	1,60	0,78
Magnésio (cmol _c dm ⁻³)	0,37	0,001	0,38	0,13	0,75	0,13
Fósforo (mg dm ⁻³)	0,17	0,090	0,21	6,10	3,25	19,70
						4,76

Continuação da tabela 3...

Atributos do solo		p > F		P. maximum cv. Mombaça		P. americanum cv. ADR 300	
	Planta de cobertura	Calagem	Interação	Sem calcário	Com calcário	Sem calcário	Com calcário
Potássio (mg dm ⁻³)	0,55	0,241	0,17	39,00	37,50	25,50	42,75
Cobre (mg dm ⁻³)	0,74	0,160	0,50	0,65	0,40	1,98	0,30
Manganês (mg dm ⁻³)	0,52	0,880	0,30	5,75	8,60	10,63	8,48
Ferro (mg dm ⁻³)	0,43	0,002	0,07	55,25	37,50	51,58	44,53
Zinco (mg dm ⁻³)	0,36	0,510	0,23	2,45	3,90	8,93	4,25
Atributos de raiz							
Volume (cm ³)	0,04	0,26	0,22	0,51	0,66	0,30	0,49
Área de Superfície (cm ²)	0,13	0,27	0,81	89,99	112,65	54,08	88,45
CER (m g ⁻¹)	0,75	0,23	0,58	71,28	82,70	57,19	86,39
Índices							
Riqueza	0,43	0,030	0,67	29,75	36,75	29,50	34,50
Shannon	0,76	0,280	0,59	2,50	2,62	2,56	2,60
Simpson	0,20	1,000	0,51	0,84	0,85	0,86	0,85
Pielou	0,83	0,280	0,66	0,90	0,95	0,92	0,94
Produtividade da soja (kg ha ⁻¹)	0,02	0,648	0,18	3.384,00	3.295,00	2.304,00	2.477,00

* Valor p > F menor do que 0,05 anula a hipótese de acaso, ou seja, indica diferença entre os tratamentos. COT – carbono orgânico total; NT – nitrogênio total; CBM – carbono de biomassa microbiana; NBM – nitrogênio da biomassa microbiana; RM – respiração microbiana; qCO₂ – quociente metabólico; qMIC – quociente microbiano; N mim – nitrogênio mineralizável; H' – diversidade metabólica de Shannon; CER – comprimento específico radicular Al+H – Alumínio mais hidrogênio.

2.4. DISCUSSÃO

2.4.1. Ação da planta de cobertura sobre os atributos do solo e a comunidade de bactérias do solo

A planta de cobertura alterou a estrutura da comunidade de bactérias do solo ($p=0,006$). No caso desse estudo, a planta de cobertura pode ter agido sobre os atributos abióticos do solo, temperatura e umidade, e esses refletiram na estrutura da comunidade de bactérias e na produtividade da soja. O solo sob *P. maximum* cv. Mombaça teve o maior volume de raízes no período do florescimento da soja (Tabela 3). Essa forragem tem o sistema radicular agressivo com grande volume de raízes, o que pode ter proporcionado o melhor desenvolvimento das raízes da soja. As raízes da planta de cobertura abrem pequenos canais no solo (Dexter, 1988), que podem ter sido usados pelas raízes da soja, as quais tendem a crescer em direção aos pontos com menor resistência à penetração. A metodologia de amostragem não permitiu separar as raízes da soja e do *P. maximum* cv. Mombaça, que poderiam estar ainda presentes no momento da coleta. Porém, o sistema com *P. maximum* cv. Mombaça teve aumento da produtividade da soja (Tabela 3), então, isso evidencia o real aumento do volume das raízes da soja, pois as raízes possibilitam a maior captação de água (Dexter, 1988) e absorção de nutrientes, melhorando a eficiência da nutrição das plantas que resulta na maior capacidade da soja em produzir grãos.

O *P. maximum* cv. Mombaça produz por ano, em média, mais de 9 toneladas de resíduo vegetal por hectare (De Andrade et al., 2017). Esse número é três vezes maior do que foi produzido por *Pennisetum americanum* cv. ADR 300 (De Andrade et al., 2017), a outra planta de cobertura estudada. A produção de mais resíduos permitiu melhor cobertura do solo, que por sua vez, pode trazer vários benefícios ao sistema, como a redução do escoamento superficial, da evapotranspiração, da temperatura do solo e aumento da umidade (Kader et al., 2017).

Nutrientes na solução do solo, umidade e temperatura do solo são fatores que impulsionam a nodulação da soja por bactérias fixadoras de nitrogênio (Kader et al., 2017) e a dinâmica da comunidade microbiana (Bardgett e van der Putten, 2014) que pode resultar em alterações na sua estrutura (Allison e Martiny, 2008). Tendo em vista que a estrutura da comunidade microbiana é sensível a mudanças na temperatura do solo (Allison e Martiny, 2008).

Os gêneros indicadores do solo sob *P. maximum* cv. Mombaça foram o *Bradyrhizobium* e *Rhodoplanes*. A inoculação com bactérias fixadoras de nitrogênio do

gênero *Bradyrhizobium* é uma prática comum no cultivo da soja. A maior abundância desse gênero no solo sob *P. maximum* cv. Mombaça (Tabela 1) pode ser devido às vantagens da cobertura do solo que foram citadas anteriormente, pois garantem a viabilidade das células bacterianas e o aumento da nodulação (Kader et al., 2017). Já *P. americanum* cv. ADR 300 propicia ao solo baixa cobertura e somada à alta radiação solar, característica do bioma Cerrado, ocasionaram o aumento da temperatura do solo, podendo explicar a redução a abundância de *Bradyrhizobium* que é sensível a altas temperaturas (Kumar et al., 2017), por isso, pode ter ocorrido a redução da abundância relativa do gênero *Bradyrhizobium* do solo sob *P. americanum* cv. ADR 300.

Por outro lado, no solo sob *P. americanum* cv. ADR 300, o gênero indicativo foi o *Bacillus* (dados descritos na seção de resultados). É possível que as bactérias desse gênero não estavam ativas e a maior abundância do gênero pode estar relacionada à capacidade de sobrevivência por meio de formação de endosporos em ambientes estressantes (Pérez-García et al., 2011). O gênero *Bacillus* inclui bactérias benéficas ao sistema, pois promovem o crescimento vegetal por meio da liberação de fitohormônios, solubilização de fosfato, produção de compostos inseticidas e antimicrobianos e indução de resistência sistemática da espécie vegetal (Pérez-García et al., 2011). Relacionar diretamente a função ecológica de um microrganismo com base na taxonomia não é seguro (Langille et al., 2013), pois a técnica de extração, sequenciamento e classificação das sequências de DNA não permitem identificar se as células microbianas estavam ativas. Entretanto, é possível inferir que o *Bacillus* deve ter um papel (ainda desconhecido) na ecologia do solo nas áreas estudadas. O gênero *Bacillus* (tanto quanto outras bactérias promotoras de crescimento) tem sido inoculado em lavouras dos Cerrados, mas os efeitos colaterais dessas inoculações não são conhecidos.

Ao contrário do que se esperava, as plantas de cobertura não tiveram efeitos sobre a agregação do solo (Tabela 2), embora o solo sob o *P. maximum* cv. Mombaça teve maior volume de raízes (Tabela 3), que é agente de formação de macroagregados (Tisdall e Oades, 1982). Logo, os sistemas não apresentaram diversidade de nichos microbianos do solo, e isso foi refletido na baixa dissimilaridade de diversidade da comunidade de bactérias (Tabela 3). Além disso, o constante cultivo de soja faz com que a planta selecione as populações microbianas que realizam funções benéficas ao seu próprio desenvolvimento (Mendes et al., 2014), consequentemente, neutralizando os possíveis efeitos das plantas de cobertura.

Os tratamentos não provocaram mudanças na taxa de respiração microbiana, no carbono orgânico total, no nitrogênio total, no nitrogênio mineralizado, no carbono e no

nitrogênio da biomassa microbiana, e nem na diversidade metabólica (Tabela 3) e no perfil metabólico (Figura 1). Esses resultados indicam que a mudança da estrutura da comunidade de bactérias não refletiu nos atributos biológicos do solo, principalmente na ciclagem de nutrientes, analisada por meio dos teores de RM e N min, e em alterações na diversidade de gêneros de bactérias (Tabela 3). Isso pode ocorrer devido à abundância relativa do gênero ser mais sensível a alterações do ambiente (Zilli et al., 2003) do que a diversidade. Além disso, é possível que vários gêneros exerçam redundantemente a mesma função (Allison e Martiny, 2008). Assim, a redundância contribuiu para manter as funções ecossistêmicas diante de distúrbios ambientais (Zilli et al., 2003; Mendes et al., 2015).

2.4.2. Ação da calagem sobre os atributos do solo e a comunidade de bactérias do solo

A calagem feita durante a instalação do experimento elevou o pH em CaCl_2 de 3,98 (De Andrade et al., 2017) para 4,62 (Tabela 3), e provocou alterações nas propriedades químicas do solo, que são importantes para o crescimento das plantas e dos microrganismos. O aumento da fertilidade do solo devido à calagem teve efeito sobre a estrutura da comunidade microbiana (calagem $p = 0,007$), assim, como relatado por Lammel et al. (2015) em estudo realizado no Cerrado brasileiro. Além disso, a disponibilidade de nutrientes para as plantas colabora para o aumento dos resíduos radiculares e da liberação radicular de compostos orgânicos de baixo peso molecular (Kumar et al., 2017). A disponibilidade de nutrientes e de compostos orgânicos lábeis tendem selecionar microrganismos (Lammel et al., 2015; Sasse et al., 2018) que tem maior habilidade em degradar esses compostos e crescer nessas condições.

Os gêneros indicativos do solo que foi aplicado calcário foram: *Catellatospora*, *Nitrospira*, *Balneimonas*, *Pedomicrobium*, *Nocardioides* e *Pirullula*, assinalando que esses gêneros têm preferência por ambientes com pH mais alto. Já o *Burkholderia*, *Saccharopolyspora* e *Candidatus Xiphinematobacter* conseguem crescer em ambientes mais ácidos. De fato, estudo feito por Weisskopf et al. (2011) revelou que o gênero *Burkhoderia* é tolerante a condições ambientais com pH baixo (pH=4,0) e são capazes de utilizar citrato e oxalato como fontes de carbono, além de produzir grandes quantidades de sideróforos. Tendo em vista que os sideróforos são considerados metabólitos de bem público, ou seja, compostos utilizados por toda a comunidade microbiana (Besset-Manzoni et al., 2018), a produção e liberação de sideróforos para o meio externo pode favorecer a solubilização do ferro e de fosfato que poderá ser absorvido por todas as células da comunidade microbiana.

O pH do solo tem potencial para alterar (Yao et al., 2000) ou não (Fierer e Jackson, 2006 e Ramirez et al., 2010) a diversidade de gêneros de bactérias. Contudo, mudanças no pH podem ser resultado da alteração da composição orgânica do solo (Weisskopf et al., 2008), interferindo na acidificação do solo quando ocorre maior liberação de ácidos orgânicos, por exemplo (Sasse et al., 2018). Por isso, parece que o pH influencia a diversidade de bactérias de forma indireta.

Neste estudo, a calagem aumentou a riqueza de gêneros (Tabela 3). Há relatos que as alterações na estrutura da comunidade não refletem na riqueza (Lammel et al., 2015; Hartman et al., 2018) e na diversidade (Jesus et al., 2009; Salvo et al., 2018) bacteriana. No presente estudo, foi identificado essa dualidade, a calagem alterou a estrutura e a riqueza de gêneros de bactérias, já a planta de cobertura alterou somente a estrutura. Logo, os fatores que determinam a estrutura da comunidade de bactérias podem ser diferentes daqueles que impulsionam a riqueza e a diversidade de bactérias.

2.5. CONCLUSÕES

A planta de cobertura e a calagem modificaram a estrutura da comunidade de bactérias do solo, mas não a diversidade. A planta de cobertura pode ter alterado os atributos abióticos, como temperatura e umidade, e, a calagem, os atributos químicos. E ambos os fatores, planta de cobertura e calagem, de forma independente alteraram a estrutura da comunidade de bactérias. Além disso, a alteração da comunidade de bactérias, somada aos efeitos da cobertura do solo podem ter contribuído para o aumento da produtividade da soja. Ação da calagem nas alterações na comunidade de bactérias resultou no aumento da atividade biológica do solo, determinada pela respiração microbiana.

2.6. LITERATURA CITADA

Allison SD, Martiny JBH. Colloquium paper: resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105 Suppl:11512–9.

Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, De Moraes Gonçalves JL, Sparovek G. Koppen's climate classification map for Brazil Clayton. *Meteorol Zeitschrift*. 2013;22:711–728.

APHA - American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19 ed. Washington: American Public Health Association, 1995.

Anderson, JPE. Soil respiration. In: PAGE AL, MILLER RH, KEENEY DR (Ed.). *Methods of soil analysis*. Ed. Madison: American Society of Agronomy: Soil Science Society of Agronomy, 1982. p. 831-872. (Agronomy, 9). part 2: Chemical and microbiological properties.

Anderson JPE, Domsch KH. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology & Biochemistry*. 1978;10:215–221.

Bach EM, Williams RJ, Hargreaves SK, Yang F, Hofmockel KS. Greatest soil microbial diversity found in micro-habitats. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier; 2018;118:217–226.

Bardgett RD, van der Putten WH. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*. Nature Publishing Group; 2014;515:505–511.

Bartlett R, Ross D. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. *Soil Sci Soc Am J*. 1988;1192:1191–1192.

Bashan Y, de-Bashan LE, Prabhu SR, Hernandez JP. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: Formulations and practical perspectives (1998-2013). *Plant Soil*. 2014;378:1–33.

Beare M, Coleman D, Hendrix PF, Odum EP. A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling. *Plant Soil*. 1995;170:5–22.

Besset-Manzoni Y, Rieusset L, Joly P, Comte G, Prigent-Combaret C. Exploiting rhizosphere microbial cooperation for developing sustainable agriculture strategies. *Environmental Science and Pollution Research*; 2018;1–18.

Blasco R, Wittich RM, Mallavarapu M, Timmis KN, Pieper DH. From xenobiotic to antibiotic, formation of protoanemonin from 4- chlorocatechol by enzymes of the 3-oxoadipate pathway. *Journal of Biological Chemistry*. 1995;270:29229–29235.

Blaud A, Lerch TZ, Chevallier T, Nunan N, Chenu C, Brauman A. Dynamics of bacterial communities in relation to soil aggregate formation during the decomposition of ¹³C-labelled rice straw. *Applied Soil Ecology*. Elsevier B.V.; 2012;53:1–9.

Bochner BR, Gadzinski P, Panomitros E, Bochner BR, Gadzinski P, Panomitros E. Phenotype MicroArrays for High-Throughput Phenotypic Testing and Assay of Gene Function. *Genome Res*. 2001;1246–1255.

Böhm, W. *Methods of studying root systems*. Ecological Studies 33. Springer Verlag Berlin Heidelberg. New York, 1979. 190 p.

Brookes PC, Landman A, Pruden G, Jenkinson DS. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology & Biochemistry*. 1985;17:837–842.

Cao H, Chen R, Wang L, Jiang L, Yang F, Zheng S, Wang G, Lin X. Soil pH, total phosphorus, climate and distance are the major factors influencing microbial activity at a regional spatial scale. *Sci Rep*. 2016;6:25815.

Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JI, Huttley G a, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone C a, Mcdonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Turnbaugh PJ, Walters W a, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. correspondence QIIME allows analysis of high- throughput community sequencing data Intensity normalization improves color calling in SOLiD sequencing. *Nat Publ Gr. Nature Publishing Group*; 2010;7:335–336.

Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Huntley J, Fierer N, Owens SM, Betley J, Fraser L, Bauer M, Gormley N, Gilbert JA, Smith G, Knight R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME Journal. Nature Publishing Group*; 2012;6:1621–1624.

Carvalhais LC, Dennis PG, Fedoseyenko D, Hajirezaei MR, Borriss R, Von Wirén N. Root exudation of sugars, amino acids, and organic acids by maize as affected by nitrogen, phosphorus, potassium, and iron deficiency. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2011;174:3–11.

Carvalho MDA, Lana CC, Bengtson P, Sá NDP. Late Aptian (Cretaceous) climate changes in northeastern Brazil : A reconstruction based on indicator species analysis (IndVal). *Palaeogeogr Palaeroclimatology, Palaeoecol*. 2017;485:543–560.

Coskun D, Britto DT, Shi W, Kronzucker HJ. How Plant Root Exudates Shape the Nitrogen Cycle. *Trends Plant Science. Elsevier Ltd*; 2017;22:661–673.

Cunha NR da S, Lima JE de, Gomes MF de M, Braga MJ. A intensidade da exploração agropecuária como indicador da degradação ambiental na região dos Cerrados, Brasil. *Rev Economia*. 2008;46:291–323.

Da Silva JE, Resck DVS, Corazza EJ, Vivaldi L. Carbon storage in clayey Oxisol cultivated pastures in the “cerrado” region, Brazil. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 2004;103:357–363.

Davinic M, Fultz LM, Acosta-Martinez V, Calderón FJ, Cox SB, Dowd SE, Allen VG, Zak JC, Moore-Kucera J. Pyrosequencing and mid-infrared spectroscopy reveal distinct aggregate stratification of soil bacterial communities and organic matter composition. *Soil Biology & Biochemistry. Elsevier Ltd*; 2012;46:63–72.

De Andrade CAO, Borghi E, Bortolon L, Bortolon ESO, de Camargo FP, Avanzi JC, Simon J, da Silva RR, Fidelis RR. Straw production and agronomic performance of soybean intercropped with forage species in no-tillage system. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 2017;52:861–868.

Dexter A. Advances in Characterization of Soil Structure. *Soil Tillage Research*. 1988;11:199–238.

Doran JW e Parkin TB. Defining and assessing soil quality. In: Doran JW, Coleman DC, Bezdicsek DF, Stewart BA. *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison, SSSA, 1994.1-20. (Special, 35)

Dufrêne M, Legendre P. Species Assemblages and Indicator Species: The Need for a Flexible Asymmetrical Approach. *Ecological Society of America*. 1997;67:345–366.

Elliott ET. Aggregate Structure and Carbon, Nitrogen, and Phosphorus in Native and Cultivated Soils. *Soil Science Society of America Journal*. 1986;50:627–633.

Feije F, Anger V. Spot test in inorganic analysis. *Analytical chemistry Acta*. 1972;149:363–367.

Fierer N, Jackson RB. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2006;103:626–631.

Ferreira, EB, Cavalcanti, PP, Nogueira, DA. ExpDes: Experimental Designs package. (2013) R package version 1.1.2. <https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes>.

Franchini JC, Crispino CC, Souza RA, Torres E, Hungria M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. *Soil Tillage Research*. 2007;92:18–29.

Fu H, Yu H, Li T, Zhang X. Influence of cadmium stress on root exudates of high cadmium accumulating rice line (*Oryza sativa* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Elsevier Inc.; 2018;150:168–175.

Garland JL, Mills AL. Classification and characterisation of heterotrophic microbial communities on the basis of pattern of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*. 1991;57:2351–2359.

Girkin NT, Turner BL, Ostle N, Craigon J, Sjögersten S. Root exudate analogues accelerate CO₂ and CH₄ production in tropical peat. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier; 2018;117:48–55.

Gregory PJ. Roots, rhizosphere and soil: The route to a better understanding of soil science? *European Journal of Soil Science*. 2006;57:2–12.

Gupta VVSR, Germida JJ. Soil aggregation: Influence on microbial biomass and implications for biological processes. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2015;80:A3–A9.

Hartman K, van der Heijden MGA, Wittwer RA, Banerjee S, Walser J-C, Schlaeppi K. Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. *Microbiome*. Microbiome; 2018;6:14.

Heinzmann FX, Miyazawa M, Pavan MA. Determinação de nitrato em extratos de solos ácidos por espectrofotometria de absorção ultravioleta. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 1984;8:159-163.

Jesus EDC, Marsh TL, Tiedje JM, Moreira FMDS. Changes in land use alter the structure of bacterial communities in Western Amazon soils. *ISME Journal*. Nature Publishing Group; 2009;3:1004–1011.

Jin K, White PJ, Whalley WR, Shen J, Shi L. Shaping an Optimal Soil by Root–Soil Interaction. *Trends Plant Science*. Elsevier Ltd; 2017;22:823–829.

Kader MA, Senge M, Mojid MA, Nakamura K. Mulching type-induced soil moisture and temperature regimes and water use efficiency of soybean under rain-fed condition in central Japan. *International Soil and Water Conservation Research*. Elsevier B.V.; 2017;5:302–308.

Karlen DL, Mausbach MJ, Doran JW, Cline RG, Harris RF, Schuman GE. Soil Quality: A Concept, Definition, and Framework for Evaluation (A Guest Editorial). *Soil Science Society of America Journal*. 1997;61:4.

Kemper W, Rosenau R. Aggregate Stability and Size Distribution. *Methods Soil Anal Part 1 - Phys Mineral Methods*. 1986;9:425–442.

Kennedy AC. Bacterial diversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 1999;74:65–76.

Kumar V, Rawat AK, Rao DLN. Population ecology of soybean-rhizobia in diverse crop rotations in Central India. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Elsevier B.V.; 2017;240:261–268.

Lammel DR, Nüsslein K, Tsai SM, Cerri CC. Land use, soil and litter chemistry drive bacterial community structures in samples of the rainforest and Cerrado (Brazilian Savannah) biomes in Southern Amazonia. *European Journal of Soil Biology*. Elsevier Masson SAS; 2015;66:32–39.

Langille MGI, Zaneveld J, Caporaso JG, McDonald D, Knights D, Reyes JA, Clemente JC, Burkepile DE, Vega Thurber RL, Knight R, Beiko RG, Huttenhower C. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat Biotechnol*. Nature Publishing Group; 2013;31:814–821.

- Larson WE, Pierce FJ. The dynamics of soil quality as a measurement of sustainable management. *Defin soil Qual a Sustain Environ*. 1994;551:37–51.
- Li WC, Deng H, Wong MH. Effects of Fe plaque and organic acids on metal uptake by wetland plants under drained and waterlogged conditions. *Environmental Pollution*. 2017;231:732–741.
- Lupwayi NZ, Arshad MA, Rice WA, Clayton GW. Bacterial diversity in water-stable aggregates of soils under conventional and zero tillage management. *Applied Soil Ecology*. 2001;16:251–261.
- Lynch JM, Whipps JM. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant Soil*. 1990;129:1–10.
- Marques, R, Motta, A C V. Análise química do solo para fins de fertilidade. In: Lima, M R (Org.). *Manual de diagnóstico da fertilidade e manejo dos solos agrícolas*. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, 2003. p. 81-102.
- Mendes LW, Kuramae EE, Navarrete AA, van Veen JA, Tsai SM. Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. *ISME Journal*. 2014;8:1577–1587.
- Mendes LW, Tsai SM, Navarrete AA, De Hollander M, Van Veen JA, Kuramae EE. Soil-Borne Microbiome: Linking Diversity to Function. *Microbial Ecology*. 2015;255–265.
- Merten GH, Araújo AG, Biscaia RCM, Barbosa GMC, Conte O. No-till surface runoff and soil losses in southern Brazil. *Soil Tillage Research*. Elsevier B.V.; 2015;152:85–93.
- Norman RI, Stucki JW. The determination of nitrate and nitrite in soil extracts by ultraviolet spectrophotometry. *Soil Science Society of America*. 1981;45:347-53.
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Szöcs E, Wagner Helene. *vegan: Community Ecology Package*. (2017). R package version 2.4-4. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Paradis E, Claude J, Strimmer K. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*. 2004;20:289-290.
- Pacheco LP, Pires FR, Monteiro FP, Procopio SO, Assis RL, Cargnelutti Filho a, Carmo ML, Petter F a. Soybean Crop Oversowing Used as a Technique to Suppress Weed Emergence. *Planta Daninha*. 2009;27:455–463.
- Pagé AP, Yergeau É, Greer CW. *Salix purpurea* stimulates the expression of specific bacterial xenobiotic degradation genes in a soil contaminated with hydrocarbons. *PLoS One*. 2015;10:1–16.

- Pérez-García A, Romero D, de Vicente A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: Biotechnological applications of Bacilli in agriculture. *Current Opinion in Biotechnology*. 2011;22:187–193.
- Perry DA, Amaranthus JG, Borchers JG, Borchers SL, Brainerd RE. Bootstrapping in Ecosystem. *Bioscience*. 1989;39:230–237.
- Potysz A, Grybos M, Kierczak J, Guibaud G, Fondaneche P, Lens PNL, van Hullebusch ED. Metal mobilization from metallurgical wastes by soil organic acids. *Chemosphere*. Elsevier Ltd; 2017;178:197–211.
- Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*. 2013;41:590–596.
- Ramirez KS, Lauber CL, Knight R, Bradford MA, Fierer N. Consistent effects of nitrogen fertilization on soil bacterial communities in contrasting systems *R eports R eports*. 2010;91:3463–3470.
- Roberts DW. labdsv: Ordination and Multivariate Analysis for Ecology. (2016) R package version 1.8-0. <https://CRAN.R-project.org/package=labdsv>.
- RStudio Team (2016). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Salvo LP Di, Ferrando L, Fernández-scavino A, Salamone IEG De. Microorganisms reveal what plants do not : wheat growth and rhizosphere microbial communities after *Azospirillum brasilense* inoculation and nitrogen fertilization under field conditions. *Plant Soil*. Plant and Soil; 2018;
- Sasse J, Martinoia E, Northen T. Feed Your Friends: Do Plant Exudates Shape the Root Microbiome? *Trends Plant Science*. Elsevier Ltd; 2018;23:25–41.
- Six J, Bossuyt H, Degryze S, Denef K. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil Tillage Research*. 2004;79:7–31.
- Tian J, Wang J, Dippold M, Gao Y, Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. Biochar affects soil organic matter cycling and microbial functions but does not alter microbial community structure in a paddy soil. *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V.; 2016;556:89–97.
- Tiritan CS, Büll LT, Crusciol CAC, Carneis Filho ACA, Fernandes DM, Nascente AS. Tillage system and lime application in a tropical region: Soil chemical fertility and corn yield in succession to degraded pastures. *Soil Tillage Research*. Elsevier B.V.; 2016;155:437–447.

- Tisdall JM, Oades JM. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Journal soil Science*. 1982;33:141–163.
- Trivedi P, Rochester IJ, Trivedi C, Van Nostrand JD, Zhou J, Karunaratne S, Anderson IC, Singh BK. Soil aggregate size mediates the impacts of cropping regimes on soil carbon and microbial communities. *Soil Biol Biochem*. Elsevier Ltd; 2015;91:169–181.
- van Dam NM, Bouwmeester HJ. Metabolomics in the Rhizosphere: Tapping into Belowground Chemical Communication. *Trends Plant Science*. Elsevier Ltd; 2016;21:256–265.
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry*. 1987;19:703–707.
- Vezzani FM, Anderson C, Meenken E, Gillespie R, Peterson M, Beare MH. The importance of plants to development and maintenance of soil structure , microbial communities and ecosystem functions. *Soil Tillage Research*. Elsevier; 2018;175:139–149.
- Vezzani FM, Mielniczuk J. Agregação e estoque de carbono em argissolo submetido a diferentes práticas de manejo agrícola. *Revista Brasileira Ciência do Solo*. 2011;35:213–223.
- Vos M, Wolf AB, Jennings SJ, Kowalchuk GA. Micro-scale determinants of bacterial diversity in soil. *FEMS Microbiology Reviews*. 2013;37:936–954.
- Weisskopf L, Heller S, Eberl L. Burkholderia species are major inhabitants of white lupin cluster roots. *Applied and Environmental Microbiology*. 2011;77:7715–7720.
- Weisskopf L, Le Bayon RC, Kohler F, Page V, Jossi M, Gobat JM, Martinoia E, Aragno M. Spatio-temporal dynamics of bacterial communities associated with two plant species differing in organic acid secretion: A one-year microcosm study on lupin and wheat. *Soil Biology & Biochemistry*. 2008;40:1772–1780.
- Yao H, He Z, Wilson M, Campbell C. Microbial Biomass and Community Structure in a Sequence of Soils with Increasing Fertility and Changing Land Use. *Microbial Ecology*. 2000;40:223–237.
- Zak CJ, Willig RM ML, HG W. Functional Diversity of Microbial Communities: A Quantative Approach. *Soil Biology & Biochemistry*. 1994;26:1101–1108.
- Zilli JÉ, Rumjanek NG, Ribeiro Xavier G, da Costa Coutinho HL, Prata Neves MC. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*. 2003;20:391–411.

2.7. MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela suplementar 1. Abundância relativa dos filos de bactérias arqueias do solo sob cobertura de *P. maximum* cv. Mombaça e *P. americanum* cv. ADR 300 (milheto) e calagem, na profundidade de 5 a 20 cm, no período de florescimento da soja na área experimental da Universidade Federal do Tocantins, campus Gurupi-TO.

Reinos	Filos	<i>P. maximum</i> cv. Mombaça		<i>P. americanum</i> cv. ADR 300		Média
		Com calcário	Sem calcário	Com calcário	Sem calcário	
		%				
Bactérias	<i>Actinobacteria</i>	49,63	48,10	50,23	49,28	49,31
Bactérias	<i>Proteobacteria</i>	18,75	18,05	17,30	16,10	17,55
Bactérias	<i>Firmicutes</i>	7,80	7,10	8,63	9,13	8,16
Bactérias	<i>Chloroflexi</i>	6,13	6,48	5,80	6,10	6,13
Bactérias	<i>Acidobacteria</i>	5,08	6,13	5,25	5,30	5,44
Bactérias	<i>AD3</i>	3,20	4,58	3,65	4,80	4,06
Bactérias	<i>Planctomycetes</i>	2,80	3,23	3,13	2,93	3,02
Bactérias	<i>Verrucomicrobia</i>	2,53	2,55	2,43	2,45	2,49
Bactérias	<i>Gemmatimonadetes</i>	1,35	0,73	0,98	0,90	0,99
Arqueias	<i>Crenarchaeota</i>	0,48	0,38	0,38	0,43	0,41
Bactérias	<i>Bacteroidetes</i>	0,33	0,23	0,33	0,25	0,28
Bactérias	<i>Nitrospirae</i>	0,28	0,10	0,20	0,13	0,18
Bactérias	<i>WPS-2</i>	0,18	0,55	0,20	0,43	0,34
Bactérias	<i>Armatimonadetes</i>	0,13	0,18	0,10	0,13	0,13
Bactérias	<i>Cyanobacteria</i>	0,13	0,15	0,10	0,15	0,13
Bactérias	<i>Elusimicrobia</i>	0,08	0,10	0,10	0,13	0,10
Bactérias	<i>Chlamydiae</i>	0,05	0,03	0,00	0,00	0,02
Arqueias	<i>Euryarchaeota</i>	0,03	0,00	0,05	0,03	0,03
Bactérias	<i>OD1</i>	0,03	0,00	0,00	0,00	0,01
Bactérias	<i>GAL15</i>	0,00	0,03	0,00	0,03	0,01
Bactérias	<i>TM6</i>	0,00	0,00	0,00	0,03	0,01
Bactérias	<i>TM7</i>	0,00	0,08	0,03	0,00	0,03
	Total	98,93	98,73	98,85	98,68	98,79

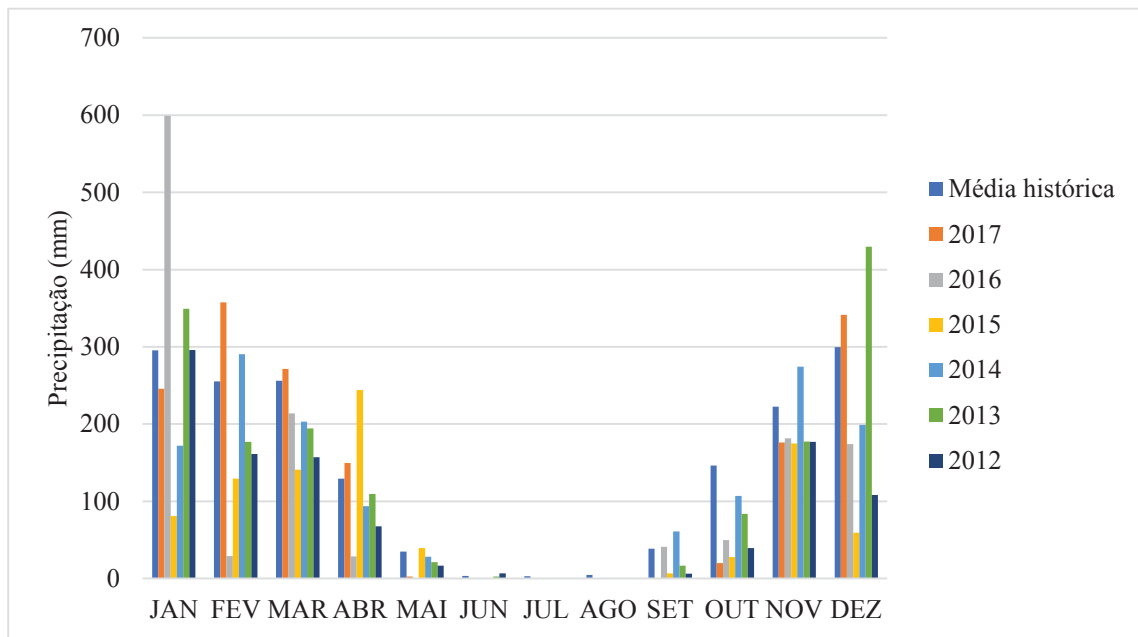


Figura Suplementar 1. Distribuição da precipitação mensal do período entre 2012 a 2017 e a média histórica que foi calculada a partir dos dados do período entre 1961 e 1990. Fonte: <<http://tempoagora.uol.com.br/previsaodotempo.html/brasil/climatologia/Gurupi-TO/>>; Estação Climatológica do Campus de Gurupi-TO que estão disponíveis no site do INMET

Bloco 1

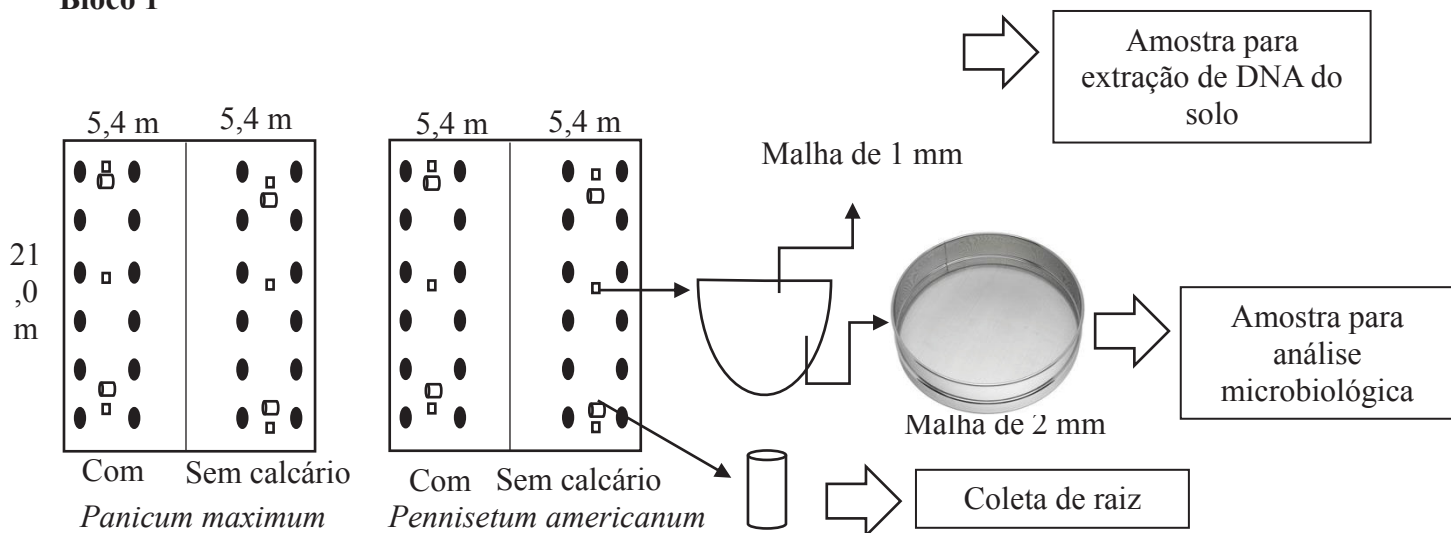


Figura Suplementar 2. Esquema explicativo da coleta de solo para análises microbiológicas e para extração de DNA do solo em um dos bloco do experimento. Os círculos (●) representam as plantas, os quadrados (▣) o local de coleta de solo e o cilindro (□) as coletas de raiz. O experimento foi composto por quatro blocos, ou seja, repetições de campo.

CONCLUSÃO GERAL

No sistema de plantio direto consolidado a planta em desenvolvimento foi quem modulou a comunidade de bactérias e arqueias independentemente do histórico de plantas. Isso ocorreu porque o sistema teve energia na forma de carbono suficiente para manter a comunidade microbiana e o funcionamento do solo, por causa disso a planta, por meio da entrada de carbono selecionou as bactérias benéficas ao seu desenvolvimento. Indicando assim, a importância da rotação de culturas para que a diversidade de gêneros de bactérias e arqueias ocorra ao longo do tempo.

Por outro lado, os sistemas com alta taxa de decomposição e baixa energia disponível na forma de carbono, as plantas de cobertura e a calagem foram os fatores que modificaram a comunidade de bactérias.

A planta em desenvolvimento, a planta de cobertura e a calagem alteraram a estrutura da comunidade de bactérias do solo. A diversidade de gêneros de bactérias foi modificada pela planta em desenvolvimento no sistema de plantio direto consolidado; e a riqueza de gêneros de bactérias foi modificada pela calagem. As alterações na comunidade microbiana refletiram na funcionalidade do sistema solo, tais como, o aumento da produtividade; e a ciclagem de carbono e nitrogênio, essas últimas analisadas por meio da respiração microbiana e nitrogênio mineralizável.

REFERÊNCIAS

- Addiscott TM. Entropy, non-linearity and hierarchy in ecosystems. *Geoderma*. Elsevier B.V.; 2010;160:57–63.
- Allison SD, Martiny JBH. Colloquium paper: resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2008;105 Suppl:11512–9.
- Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, De Moraes Gonçalves JL, Sparovek G. Koppen's climate classification map for Brazil Clayton. *Meteorol Zeitschrift*. 2013;22:711–728.
- APHA - American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19 ed. Washington: American Public Health Association, 1995.
- Arias ME, Blázquez A, Hernández M, Rodríguez J, Ball AS, Jiménez-Morillo NT, González-Vila FJ, González-Pérez JA. Role of a thermostable laccase produced by *Streptomyces ipomoeae* in the degradation of wheat straw lignin in solid state fermentation. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. Elsevier B.V.; 2016;122:202–208.
- Anderson, JPE. Soil respiration. In: PAGE AL, MILLER RH, KEENEY DR (Ed.). *Methods of soil analysis*. Ed. Madison: American Society of Agronomy: Soil Science Society of Agronomy, 1982. p. 831-872. (Agronomy, 9). part 2: Chemical and microbiological properties.
- Anderson JPE, Domsch KH. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology & Biochemistry*. 1978;10:215–221.
- Bach EM, Williams RJ, Hargreaves SK, Yang F, Hofmockel KS. Greatest soil microbial diversity found in micro-habitats. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier; 2018;118:217–226.
- Bayer C, Gomes J, Zanatta JA, Vieira FCB, Dieckow J. Mitigating greenhouse gas emissions from a subtropical Ultisol by using long-term no-tillage in combination with legume cover crops. *Soil Tillage Research*. 2016;161:86–94.
- Balota EL, Filho AC, Andrade DS, Dick RP. Long-term tillage and crop rotation effects on microbial biomass and C and N mineralization in a Brazilian Oxisol. *Soil Tillage Research*. 2004;77:137–145.
- Bao H, Kao SJ, Lee TY, Zehetner F, Huang JC, Chang YP, Lu JT, Lee JY. Distribution of organic carbon and lignin in soils in a subtropical small mountainous river basin. *Geoderma*. Elsevier; 2017;306:81–88.
- Bashan Y, de-Bashan LE, Prabhu SR, Hernandez JP. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: Formulations and practical perspectives (1998-2013). *Plant Soil*. 2014;378:1–33.

Bardgett RD, van der Putten WH. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*. Nature Publishing Group; 2014;515:505–511.

Bartlett R, Ross D. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. *Soil Science Society America Journal*. 1988;1192:1191–1192.

Baumann K, Sanaullah M, Chabbi A, Dignac MF, Bardoux G, Steffens M, Kögel-Knabner I, Rumpel C. Changes in litter chemistry and soil lignin signature during decomposition and stabilisation of ¹³C labelled wheat roots in three subsoil horizons. *Soil Biology Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2013;67:55–61.

Beare M, Coleman D, Hendrix PF, Odum EP. A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling. *Plant Soil*. 1995;170:5–22.

Benitez M, Osborne SL, Lehman RM. Previous crop and rotation history effects on maize seedling health and associated rhizosphere microbiome. *Scientific Reports*. Springer US; 2017;1–13.

Beset-Manzoni Y, Rieusset L, Joly P, Comte G, Prigent-Combaret C. Exploiting rhizosphere microbial cooperation for developing sustainable agriculture strategies. *Environmental Science and Pollution Research*; 2018;1–18.

Bochner BR, Gadzinski P, Panomitros E, Bochner BR, Gadzinski P, Panomitros E. Phenotype MicroArrays for High-Throughput Phenotypic Testing and Assay of Gene Function. *Genome Research*. 2001;11:1246–1255.

Bogino PC, Nievas FL, Giordano W. A review : Quorum sensing in *Bradyrhizobium*. *Applied Soil Ecology*. Elsevier B.V.; 2015;94:49–58.

Blasco R, Wittich RM, Mallavarapu M, Timmis KN, Pieper DH. From xenobiotic to antibiotic, formation of protoanemonin from 4- chlorocatechol by enzymes of the 3-oxoadipate pathway. *Journal of Biological Chemistry*. 1995;270:29229–29235.

Blaud A, Lerch TZ, Chevallier T, Nunan N, Chenu C, Brauman A. Dynamics of bacterial communities in relation to soil aggregate formation during the decomposition of ¹³C-labelled rice straw. *Applied Soil Ecology*. Elsevier B.V.; 2012;53:1–9.

Bochner BR, Gadzinski P, Panomitros E, Bochner BR, Gadzinski P, Panomitros E. Phenotype MicroArrays for High-Throughput Phenotypic Testing and Assay of Gene Function. *Genome Res*. 2001;1246–1255.

Böhm, W. Methods of studying root systems. *Ecological Studies* 33. Springer Verlag Berlin Heidelberg. New York, 1979. 190 p.

Brookes PC, Landman A, Pruden G, Jenkinson DS. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology & Biochemistry*. 1985;17:837–842.

Campos SB, Lisboa BB, Camargo FAO, Bayer C, Sczyrba A, Dirksen P, Albersmeier A, Kalinowski J, Beneduzi A, Costa PB, Passaglia LMP, Vargas LK, Wendisch VF. Soil suppressiveness and its relations with the microbial community in a Brazilian subtropical agroecosystem under different management systems. *Soil Biology & Biochemistry*. 2016;96:191–197.

Cao H, Chen R, Wang L, Jiang L, Yang F, Zheng S, Wang G, Lin X. Soil pH, total phosphorus, climate and distance are the major factors influencing microbial activity at a regional spatial scale. *Scientific Reports*. 2016;6:25815.

Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JI, Huttley G a, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone C a, Mcdonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Turnbaugh PJ, Walters W a, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. correspondence QIIME allows analysis of high- throughput community sequencing data Intensity normalization improves color calling in SOLiD sequencing. *Nat Publ Gr. Nature Publishing Group*; 2010;7:335–336.

Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Huntley J, Fierer N, Owens SM, Betley J, Fraser L, Bauer M, Gormley N, Gilbert JA, Smith G, Knight R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME Journal. Nature Publishing Group*; 2012;6:1621–1624.

Chaparro JM, Badri D V, Vivanco JM. Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development. *ISME Journal. Nature Publishing Group*; 2014;8:790–803.

Carvalhais LC, Dennis PG, Fedoseyenko D, Hajirezaei MR, Borriss R, Von Wirén N. Root exudation of sugars, amino acids, and organic acids by maize as affected by nitrogen, phosphorus, potassium, and iron deficiency. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*. 2011;174:3–11.

Carvalho MDA, Lana CC, Bengtson P, Sá NDP. Late Aptian (Cretaceous) climate changes in northeastern Brazil : A reconstruction based on indicator species analysis (IndVal). *Palaeogeogr Palaeroclimatology, Palaeoecol*. 2017;485:543–560.

Chen ZJ, Tian YH, Zhang Y, Song BR, Li HC, Chen ZH. Effects of root organic exudates on rhizosphere microbes and nutrient removal in the constructed wetlands. *Ecological Engineering. Elsevier B.V.*; 2016;92:243–250.

Coskun D, Britto DT, Shi W, Kronzucker HJ. How Plant Root Exudates Shape the Nitrogen Cycle. *Trends Plant Science. Elsevier Ltd*; 2017;22:661–673.

Cotrufo MF, Soong JL, Horton AJ, Campbell EE, Haddix ML, Wall DH, Parton WJ. Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. *Nature Geoscience*. 2015;8:776–779.

Cunha NR da S, Lima JE de, Gomes MF de M, Braga MJ. A intensidade da exploração agropecuária como indicador da degradação ambiental na região dos Cerrados, Brasil. *Rev Economia*.2008;46:291–323.

Da Silva VR, Reichert JM, Reinert DJ. Variação na temperatura do solo em três sistemas de manejo na cultura do feijão. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*. 2006;30:391–399.

Davinic M, Fultz LM, Acosta-Martinez V, Calderón FJ, Cox SB, Dowd SE, Allen VG, Zak JC, Moore-Kucera J. Pyrosequencing and mid-infrared spectroscopy reveal distinct aggregate stratification of soil bacterial communities and organic matter composition. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2012;46:63–72.

De Andrade CAO, Borghi E, Bortolon L, Bortolon ESO, de Camargo FP, Avanzi JC, Simon J, da Silva RR, Fidelis RR. Straw production and agronomic performance of soybean intercropped with forage species in no-tillage system. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. 2017;52:861–868.

Dey R, Pal KK, Tilak KVBR. Influence of soil and plant types on diversity of rhizobacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*. 2012;82:341–352.

Dexter A. Advances in Characterization of Soil Structure. *Soil Tillage Research*. 1988;11:199–238.

Doran JW e Parkin TB. Defining and assessing soil quality. In: Doran JW, Coleman DC, Bezdicsek DF, Stewart BA. *Defining soil quality for a sustainable environment*. Madison, SSSA, 1994.1-20. (Special, 35)

Dufrêne M, Legendre P. Species Assemblages and Indicator Species : The Need for a Flexible Asymmetrical Approach. *Ecological Society of America*. 1997;67:345–366.

Elliott ET. Aggregate Structure and Carbon, Nitrogen, and Phosphorus in Native and Cultivated Soils. *Soil Science Society of America Journal*. 1986;50:627–633.

Feije F, Anger V. Spot test in inorganic analysis. *Analytical chemistry Acta*. 1972;149:363–367.

Ferreira, EB, Cavalcanti, PP, Nogueira, DA. *ExpDes: Experimental Designs package*. (2013) R package version 1.1.2. <https://CRAN.R-project.org/package=ExpDes>.

Ferreira A de O, Amado T, Rice CW, Diaz DAR, Keller C, Inagaki TM. Can no-till grain production restore soil organic carbon to levels natural grass in a subtropical Oxisol? *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Elsevier B.V.; 2016;229:13–20.

- Fierer N, Brasford MA, Jackson RB. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*. 2007;88:1354–1364.
- Fierer N, Leff JW, Adams BJ, Nielsen UN, Bates ST, Lauber CL, Owens S, Gilbert JA, Wall DH, Caporaso JG. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109:21390–21395.
- Fontaine S, Mariotti A, Abbadie L. The priming effect of organic matter: A question of microbial competition? *Soil Biology & Biochemistry*. 2003;35:837–843.
- Franchini JC, Crispino CC, Souza RA, Torres E, Hungria M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. *Soil Tillage Research*. 2007;92:18–29.
- Fu H, Yu H, Li T, Zhang X. Influence of cadmium stress on root exudates of high cadmium accumulating rice line (*Oryza sativa* L.). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Elsevier Inc.; 2018;150:168–175.
- Garland JL, Mills AL. Classification and characterisation of heterotrophic microbial communities on the basis of pattern of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*. 1991;57:2351–2359.
- Girkin NT, Turner BL, Ostle N, Craigan J, Sjögersten S. Root exudate analogues accelerate CO₂ and CH₄ production in tropical peat. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier; 2018;117:48–55.
- Grayston SJ, Griffith GS, Mawdsley JL, Campbell CD, Bardgett RD. Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*. 2001;33:533–551.
- Gregory PJ. Roots, rhizosphere and soil: The route to a better understanding of soil science? *European Journal of Soil Science*. 2006;57:2–12.
- Gupta VVSR, Germida JJ. Soil aggregation: Influence on microbial biomass and implications for biological processes. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2015;80:A3–A9.
- Haichar F el Z, Santaella C, Heulin T, Achouak W. Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2014;77:69–80.
- Hartman K, van der Heijden MGA, Wittwer RA, Banerjee S, Walser J-C, Schlaeppli K. Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. *Microbiome*. Microbiome; 2018;6:14.
- Heinzmann FX, Miyazawa M, Pavan MA. Determinação de nitrato em extratos de solos ácidos por espectrofotometria de absorção ultravioleta. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 1984;8:159–163.

- Hirsch PR, Mauchline TH. The Importance of the Microbial N Cycle in Soil for Crop Plant Nutrition [Internet]. *Advances in Applied Microbiology*. Elsevier Ltd; 2015.
- Hobbs PR, Sayre K, Gupta R. The role of conservation agriculture in sustainable agriculture. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. 2008;363:543–555.
- Hungria M, Franchini JC, Brandão-Junior O, Kaschuk G, Souza RA. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. *Applied Soil Ecology*. 2009;42:288–296.
- Iannucci A, Fragasso M, Beleggia R, Nigro F, Papa R. Evolution of the Crop Rhizosphere: Impact of Domestication on Root Exudates in Tetraploid Wheat (*Triticum turgidum* L.). *Frontiers in Plant Science*. 2017;8.
- James E. Nitrogen Fixation [Internet]. Second Edi. *Encycl. Applications in Plant Sciences*. Elsevier; 2017.
- Jesus EDC, Marsh TL, Tiedje JM, Moreira FMDS. Changes in land use alter the structure of bacterial communities in Western Amazon soils. *ISME Journal*. Nature Publishing Group; 2009;3:1004–1011.
- Jin K, White PJ, Whalley WR, Shen J, Shi L. Shaping an Optimal Soil by Root–Soil Interaction. *Trends Plant Science*. Elsevier Ltd; 2017;22:823–829.
- Jones DL, Kemmitt SJ, Wright D, Cuttle SP, Bol R, Edwards AC. Rapid intrinsic rates of amino acid biodegradation in soils are unaffected by agricultural management strategy. *Soil Biology & Biochemistry*. 2005;37:1267–1275.
- Jones SE, Elliot MA. *Streptomyces Exploration : Competition , Volatile Communication and New Bacterial Behaviours*. *Trends Microbiology*. Elsevier Ltd; 2017;25:522–531.
- Kader MA, Senge M, Mojid MA, Nakamura K. Mulching type-induced soil moisture and temperature regimes and water use efficiency of soybean under rain-fed condition in central Japan. *International Soil and Water Conservation Research*. Elsevier B.V.; 2017;5:302–308.
- Karlen DL, Mausbach MJ, Doran JW, Cline RG, Harris RF, Schuman GE. Soil Quality: A Concept, Definition, and Framework for Evaluation (A Guest Editorial). *Soil Science Society of America Journal*. 1997;61:4.
- Kemper W, Rosenau R. Aggregate Stability and Size Distribution. *Methods Soil Anal Part 1 - Phys Mineral Methods*. 1986;9:425–442.
- Kennedy AC. Bacterial diversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 1999;74:65–76.
- Kiani M, Hernandez-Ramirez G, Quideau S, Smith E, Janzen H, Larney FJ, Puurveen D. Quantifying sensitive soil quality indicators across contrasting long-term land management

systems: Crop rotations and nutrient regimes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 2017;248:123–135.

Kumar V, Rawat AK, Rao DLN. Population ecology of soybean-rhizobia in diverse crop rotations in Central India. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. Elsevier B.V.; 2017;240:261–268.

Kuzmicheva Y V., Shaposhnikov AI, Petrova SN, Makarova NM, Tychinskaya IL, Puhalsky J V., Parahin N V., Tikhonovich IA, Belimov AA. Variety specific relationships between effects of rhizobacteria on root exudation, growth and nutrient uptake of soybean. *Plant and Soil*. Springer; 2017;1–14.

Kuzyakov Y, Blagodatskaya E. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2015;83:184–199.

Lammel DR, Nüsslein K, Tsai SM, Cerri CC. Land use, soil and litter chemistry drive bacterial community structures in samples of the rainforest and Cerrado (Brazilian Savannah) biomes in Southern Amazonia. *European Journal of Soil Biology*. Elsevier Masson SAS; 2015;66:32–39.

Langille MGI, Zaneveld J, Caporaso JG, McDonald D, Knights D, Reyes JA, Clemente JC, Burkepile DE, Vega Thurber RL, Knight R, Beiko RG, Huttenhower C. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat Biotechnol*. Nature Publishing Group; 2013;31:814–821.

Larson WE, Pierce FJ. The dynamics of soil quality as a measurement of sustainable management. *Defin soil Qual a Sustain Environ*. 1994;551:37–51.

Leigh MB, Fletcher JS, Fu X, Schmitz FJ. Root turnover: An important source of microbial substrates in rhizosphere remediation of recalcitrant contaminants. *Environmental Science & Technology*. 2002;36:1579–1583.

Li R, Khafipour E, Krause DO, Entz MH, de Kievit TR, Fernando WGD. Pyrosequencing Reveals the Influence of Organic and Conventional Farming Systems on Bacterial Communities. *PLoS One*. 2012;7.

Loss A, Costa EM, Pereira MG, Beutler SJ. Agregação, matéria orgânica leve e carbono mineralizável em agregados do solo. *Revista de la facultad de agronomía, La Plata*. 2014;113:1–8.

Lupwayi NZ, Arshad MA, Rice WA, Clayton GW. Bacterial diversity in water-stable aggregates of soils under conventional and zero tillage management. *Appl Soil Ecology*. 2001;16:251–261.

Lynch JM, Whipps JM. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant Soil*. 1990;129:1–10.

Marques, R, Motta, A C V. Análise química do solo para fins de fertilidade. In: Lima, M R

(Org.). Manual de diagnóstico da fertilidade e manejo dos solos agrícolas. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, 2003. p. 81-102.

McDaniel M, Tiemann L. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. *Ecological*. 2014;24:560–570.

McDaniel MD, Grandy AS, Tiemann LK, Weintraub MN. Crop rotation complexity regulates the decomposition of high and low quality residues. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2014;78:243–254.

Mendes LW, Kuramae EE, Navarrete AA, van Veen JA, Tsai SM. Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. *ISME Journal*. 2014;8:1577–1587.

Mendes LW, Tsai SM, Navarrete AA, De Hollander M, Van Veen JA, Kuramae EE. Soil-Borne Microbiome: Linking Diversity to Function. *Microbial Ecology*. 2015;255–265.

Merten GH, Araújo AG, Biscaia RCM, Barbosa GMC, Conte O. No-till surface runoff and soil losses in southern Brazil. *Soil Tillage Research*. Elsevier B.V.; 2015;152:85–93.

Monteiro P, Borba MP, Sand ST Van Der. Evaluation of the Antifungal Activity of *Streptomyces* sp . on *Bipolaris sorokiniana* and the Growth Promotion of Wheat Plants. *Journal of Agricultural Science*. 2017;9:229–240.

Norman RI, Stucki JW. The determination of nitrate and nitrite in soil extracts by ultraviolet spectrophotometry. *Soil Science Society of America*. 1981;45:347-53.

Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Szoecs E, Wagner Helene. *vegan: Community Ecology Package*. (2017). R package version 2.4-4. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.

Oades JM. Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management. *Plant Soil*. 1984;76:319–337.

Pacheco LP, Pires FR, Monteiro FP, Procopio SO, Assis RL, Cargnelutti Filho a, Carmo ML, Petter F a. Soybean Crop Oversowing Used as a Technique to Suppress Weed Emergence. *Planta Daninha*. 2009;27:455–463.

Pagé AP, Yergeau É, Greer CW. *Salix purpurea* stimulates the expression of specific bacterial xenobiotic degradation genes in a soil contaminated with hydrocarbons. *PLoS One*. 2015;10:1–16.

Paradis E, Claude J, Strimmer K. APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*. 2004;20:289-290.

Pérez-García A, Romero D, de Vicente A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: Biotechnological applications of Bacilli in agriculture. *Current Opinion in Biotechnology*. 2011;22:187–193.

Perry DA, Amaranthus JG, Borchers JG, Borchers SL, Brainerd RE. Bootstrapping in Ecosystem. *Bioscience*. 1989;39:230–237.

Potysz A, Grybos M, Kierczak J, Guibaud G, Fondaneche P, Lens PNL, van Hullebusch ED. Metal mobilization from metallurgical wastes by soil organic acids. *Chemosphere*. Elsevier Ltd; 2017;178:197–211.

Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*. 2013;41:590–596.

Ramirez-Villanueva DA, Bello-López JM, Navarro-Noya YE, Luna-Guido M, Verhulst N, Govaerts B, Dendooven L. Bacterial community structure in maize residue amended soil with contrasting management practices. *Applied Soil Ecology*. Elsevier B.V.; 2015;90:49–59.

Ramirez KS, Lauber CL, Knight R, Bradford MA, Fierer N. Consistent effects of nitrogen fertilization on soil bacterial communities in contrasting systems. *Ecological Society of America*. 2010;91:3463–3470.

Remenant B, Grundmann GL, Jocteur-Monrozier L. From the micro-scale to the habitat: Assessment of soil bacterial community structure as shown by soil structure directed sampling. *Soil Biology & Biochemistry*. 2009;41:29–36.

Roberts DW. labdsv: Ordination and Multivariate Analysis for Ecology. (2016) R package version 1.8-0. <https://CRAN.R-project.org/package=labdsv>.

RStudio Team (2016). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.

Sá JC de M, Séguy L, Tivet F, Lal R, Bouzinac S, Borszowski PR, Briedis C, Burkner J, Hartman C, Bertoloni CG, Rosa J. Carbon depletion by plowing and its restoration by No-Till cropping systems in Oxisols of subtropical and tropical agro-ecoregions in Brazil. *Land Degradation & Development*. 2013;543:531–543.

Salvo LP Di, Ferrando L, Fernández-scavino A, Salamone IEG De. Microorganisms reveal what plants do not : wheat growth and rhizosphere microbial communities after *Azospirillum brasilense* inoculation and nitrogen fertilization under field conditions. *Plant Soil*. Springer; 2018;

Sasse J, Martinoia E, Northen T. Feed Your Friends: Do Plant Exudates Shape the Root Microbiome? *Trends Plant Science*. Elsevier Ltd; 2018;23:25–41.

Schmidt H, Eickhorst T. Detection and quantification of native microbial populations on soil-grown rice roots by catalyzed reporter deposition- fluorescence in situ hybridization. *FEMS Microbiol Ecology*. 2013;87:390–402.

Schmidt MWI, Torn MS, Abiven S, Dittmar T, Guggenberger G, Janssens IA, Kleber M, Kögel-Knabner I, Lehmann J, Manning DAC, Nannipieri P, Rasse DP, Weiner S, Trumbore SE. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*. 2011;478:49–56.

Silva AP, Babujia LC, Franchini JC, Souza RA, Hungria M. Microbial biomass under various soil- and crop-management systems in short- and long-term experiments in Brazil. *Field Crops Research*. Elsevier B.V.; 2010;119:20–26.

Six J, Bossuyt H, Degryze S, Denef K. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil Tillage Research*. 2004;79:7–31.

Six J, Elliott ET, Paustian K, Doran JW. Aggregation and Soil Organic Matter Accumulation in Cultivated and Native Grassland Soils. *Soil Science Society of America Journal*. 1998;62:1367.

Souza RC, Cantão ME, Vasconcelos ATR, Nogueira MA, Hungria M. Soil metagenomics reveals differences under conventional and no-tillage with crop rotation or succession. *Applied Soil Ecology*. Elsevier B.V.; 2013;72:49–61.

Suela Silva M, Naves Sales A, Teixeira Magalhães-Guedes K, Ribeiro Dias D, Schwan RF. Brazilian cerrado soil actinobacteria ecology. *Biomed research international*. 2013;2013.

Sugiyama A, Ueda Y, Zushi T, Takase H, Yazaki K. Changes in the bacterial community of soybean rhizospheres during growth in the field. *PLoS One*. 2014;9:1–9.

Tian J, Wang J, Dippold M, Gao Y, Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. Biochar affects soil organic matter cycling and microbial functions but does not alter microbial community structure in a paddy soil. *Science of the Total Environment*. Elsevier B.V.; 2016;556:89–97.

Tisdall JM, Oades JM. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *Soil Science Society of America Journal*. 1982;33:141–163.

Tiritan CS, Büll LT, Crusciol CAC, Carneis Filho ACA, Fernandes DM, Nascente AS. Tillage system and lime application in a tropical region: Soil chemical fertility and corn yield in succession to degraded pastures. *Soil Tillage Research*. Elsevier B.V.; 2016;155:437–447.

Toumatia O, Compant S, Yekkour A, Goudjal Y, Sabaou N, Mathieu F, Sessitsch A, Zitouni A. Biocontrol and plant growth promoting properties of *Streptomyces mutabilis* strain IA1 isolated from a Saharan soil on wheat seedlings and visualization of its niches of colonization. *South African Journal of Botany*; 2016;105:234–239.

Trivedi P, Rochester IJ, Trivedi C, Van Nostrand JD, Zhou J, Karunaratne S, Anderson IC, Singh BK. Soil aggregate size mediates the impacts of cropping regimes on soil carbon and microbial communities. *Soil Biology & Biochemistry*. Elsevier Ltd; 2015;91:169–181.

Turner TR, Ramakrishnan K, Walshaw J, Heavens D, Alston M, Swarbreck D, Osbourn A, Grant A, Poole PS. Comparative metatranscriptomics reveals kingdom level changes in the rhizosphere microbiome of plants. *ISME Journal*. Nature Publishing Group; 2013;7:2248–2258.

van Dam NM, Bouwmeester HJ. Metabolomics in the Rhizosphere: Tapping into Belowground Chemical Communication. *Trends Plant Science*. Elsevier Ltd; 2016;21:256–265.

Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry*. 1987;19:703–707.

Vezzani FM, Anderson C, Meenken E, Gillespie R, Peterson M, Beare MH. The importance of plants to development and maintenance of soil structure, microbial communities and ecosystem functions. *Soil Tillage Research*. Elsevier; 2018;175:139–149.

Vezzani FM, Mielniczuk J. Uma visão sobre qualidade do solo. *Revista de Brasileira Ciência do Solo*. 2009;33:743–755.

Vezzani FM, Mielniczuk J. Agregação e estoque de carbono em Argissolo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2011;35:213–223.

Vos M, Wolf AB, Jennings SJ, Kowalchuk GA. Micro-scale determinants of bacterial diversity in soil. *FEMS Microbiology Reviews*. 2013;37:936–954.

Wang Y, Ji H, Wang R, Guo S, Gao C. Impact of root diversity upon coupling between soil C and N accumulation and bacterial community dynamics and activity: Result of a 30 year rotation experiment. *Geoderma*. 2017;292:87–95.

Ward NL, Challacombe JF, Janssen PH, Henrissat B, Coutinho PM, Wu M, Xie G, Haft DH, Sait M, Badger J, Barabote RD, Bradley B, Brettin TS, Brinkac LM, Bruce D, Creasy T, Daugherty SC, Davidsen TM, Deboy RT, Detter JC, Dodson RJ, Durkin AS, Ganapathy A, Gwinn-giglio M, Han CS, Khouri H, Kiss H, Kothari SP, Madupu R, Nelson KE, Nelson WC, Paulsen I, Penn K, Ren Q, Rosovitz MJ, Selengut JD, Shrivastava S, Sullivan SA, Tapia R, Thompson LS, Watkins KL, Yang Q, Yu C, Zafar N, Zhou L, Kuske CR. Three Genomes from the Phylum Acidobacteria Provide Insight into the Lifestyles of These Microorganisms in Soils. *Applied and Environmental Microbiology*. 2009;75:2046–2056.

Weisskopf L, Heller S, Eberl L. Burkholderia species are major inhabitants of white lupin cluster roots. *Applied and Environmental Microbiology*. 2011;77:7715–7720.

Weisskopf L, Le Bayon RC, Kohler F, Page V, Jossi M, Gobat JM, Martinoia E, Aragno M. Spatio-temporal dynamics of bacterial communities associated with two plant species

differing in organic acid secretion: A one-year microcosm study on lupin and wheat. *Soil Biology & Biochemistry*. 2008;40:1772–1780.

White PJ, George TS, Gregory PJ, Bengough AG, Hallett PD, McKenzie BM. Matching roots to their environment. *Annals of Botany*. 2013;112:207–222.

Winck BR, Vezzani FM, Dieckow J, Favaretto N, Molin R. Carbono e nitrogênio nas frações granulométricas da matéria orgânica do solo, em sistemas de culturas sob plantio direto. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2014;38:980–989.

Yao H, He Z, Wilson M, Campbell C. Microbial Biomass and Community Structure in a Sequence of Soils with Increasing Fertility and Changing Land Use. *Microbial Ecology*. 2000;40:223–237.

Zak D, Holmes W, White D, Peacock A, Tilman D. Plant Diversity, Soil Microbial Communities, and Ecosystem Function: Are There Any Links? *Ecology*. 2003;84:2042–2050.

Zak C J, Willig RM, Moorhead DL, Wildman HG. Functional Diversity of Microbial Communities: A Quantative Approach. *Soil Biology & Biochemistry*. 1994;26:1101–1108.

Zilli JÉ, Rumjanek NG, Ribeiro Xavier G, da Costa Coutinho HL, Prata Neves MC. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*. 2003;20:391–411. Addiscott TM. Entropy, non-linearity and hierarchy in ecosystems. *Geoderma*. Elsevier B.V.; 2010;160:57–63.

Allison SD, Martiny JBH. Colloquium paper: resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105 Suppl:11512–9.

Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, De Moraes Gonçalves JL, Sparovek G. Koppen's climate classification map for Brazil Clayton. *Meteorol Zeitschrift*. 2013;22:711–728.

Anderson JPE, Domsch KH. A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol Biochem*. 1978;10:215–221.

Arias ME, Blánquez A, Hernández M, Rodríguez J, Ball AS, Jiménez-Morillo NT, González-Vila FJ, González-Pérez JA. Role of a thermostable laccase produced by *Streptomyces ipomoeae* in the degradation of wheat straw lignin in solid state fermentation. *J Anal Appl Pyrolysis*. Elsevier B.V.; 2016;122:202–208.

Bach EM, Williams RJ, Hargreaves SK, Yang F, Hofmockel KS. Greatest soil microbial diversity found in micro-habitats. *Soil Biol Biochem*. Elsevier; 2018;118:217–226.

Balota EL, Filho AC, Andrade DS, Dick RP. Long-term tillage and crop rotation effects on microbial biomass and C and N mineralization in a Brazilian Oxisol. *Soil Tillage Res*. 2004;77:137–145.

Bao H, Kao SJ, Lee TY, Zehetner F, Huang JC, Chang YP, Lu JT, Lee JY. Distribution of organic carbon and lignin in soils in a subtropical small mountainous river basin. *Geoderma*. Elsevier; 2017;306:81–88.

Bardgett RD, van der Putten WH. Belowground biodiversity and ecosystem functioning.

Nature. Nature Publishing Group; 2014;515:505–511.

Bartlett R, Ross D. Colorimetric determination of oxidizable carbon in acid soil solutions. *Soil Sci Soc Am J.* 1988;1192:1191–1192.

Bashan Y, de-Bashan LE, Prabhu SR, Hernandez JP. Advances in plant growth-promoting bacterial inoculant technology: Formulations and practical perspectives (1998-2013). *Plant Soil.* 2014;378:1–33.

Baumann K, Sanaullah M, Chabbi A, Dignac MF, Bardoux G, Steffens M, Kögel-Knabner I, Rumpel C. Changes in litter chemistry and soil lignin signature during decomposition and stabilisation of ¹³C labelled wheat roots in three subsoil horizons. *Soil Biol Biochem.* Elsevier Ltd; 2013;67:55–61.

Bayer C, Gomes J, Zanatta JA, Vieira FCB, Dieckow J. Mitigating greenhouse gas emissions from a subtropical Ultisol by using long-term no-tillage in combination with legume cover crops. *Soil Tillage Res.* 2016;161:86–94.

Beare M, Coleman D, Hendrix PF, Odum EP. A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling. *Plant Soil.* 1995;170:5–22.

Benitez M, Osborne SL, Lehman RM. Previous crop and rotation history effects on maize seedling health and associated rhizosphere microbiome. *Sci Rep.* Springer US; 2017;1–13.

Besset-Manzoni Y, Rieusset L, Joly P, Comte G, Prigent-Combaret C. Exploiting rhizosphere microbial cooperation for developing sustainable agriculture strategies. *Environ Sci Pollut Res.* Environmental Science and Pollution Research; 2018;1–18.

Blasco R, Wittich RM, Mallavarapu M, Timmis KN, Pieper DH. From xenobiotic to antibiotic, formation of protoanemonin from 4- chlorocatechol by enzymes of the 3-oxoadipate pathway. *J Biol Chem.* 1995;270:29229–29235.

Blaud A, Lerch TZ, Chevallier T, Nunan N, Chenu C, Brauman A. Dynamics of bacterial communities in relation to soil aggregate formation during the decomposition of ¹³C-labelled rice straw. *Appl Soil Ecol.* Elsevier B.V.; 2012;53:1–9.

Bochner BR, Gadzinski P, Panomitros E, Bochner BR, Gadzinski P, Panomitros E. Phenotype MicroArrays for High-Throughput Phenotypic Testing and Assay of Gene Function. *Genome Res.* 2001;1246–1255.

Bogino PC, Nievas FL, Giordano W. A review : Quorum sensing in *Bradyrhizobium*. *Appl Soil Ecol.* Elsevier B.V.; 2015;94:49–58.

Brookes PC, Landman A, Pruden G, Jenkinson DS. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol Biochem.* 1985;17:837–842.

Campos SB, Lisboa BB, Camargo FAO, Bayer C, Sczyrba A, Dirksen P, Albersmeier A, Kalinowski J, Beneduzi A, Costa PB, Passaglia LMP, Vargas LK, Wendisch VF. Soil suppressiveness and its relations with the microbial community in a Brazilian subtropical agroecosystem under different management systems. *Soil Biol Biochem.* 2016;96:191–197.

Cao H, Chen R, Wang L, Jiang L, Yang F, Zheng S, Wang G, Lin X. Soil pH, total phosphorus, climate and distance are the major factors influencing microbial activity at a

regional spatial scale. *Sci Rep.* 2016;6:25815.

Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JI, Huttley G a, Kelley ST, Knights D, Koenig JE, Ley RE, Lozupone C a, Mcdonald D, Muegge BD, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky JR, Turnbaugh PJ, Walters W a, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. correspondence QIIME allows analysis of high- throughput community sequencing data Intensity normalization improves color calling in SOLiD sequencing. *Nat Publ Gr. Nature Publishing Group*; 2010;7:335–336.

Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Huntley J, Fierer N, Owens SM, Betley J, Fraser L, Bauer M, Gormley N, Gilbert JA, Smith G, Knight R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. *ISME J. Nature Publishing Group*; 2012;6:1621–1624.

Carvalhais LC, Dennis PG, Fedoseyenko D, Hajirezaei MR, Borriss R, Von Wirén N. Root exudation of sugars, amino acids, and organic acids by maize as affected by nitrogen, phosphorus, potassium, and iron deficiency. *J Plant Nutr Soil Sci.* 2011;174:3–11.

Carvalho MDA, Lana CC, Bengtson P, Sá NDP. Late Aptian (Cretaceous) climate changes in northeastern Brazil : A reconstruction based on indicator species analysis (IndVal). *Palaeogeogr Palaeroclimatology, Palaeoecol.* 2017;485:543–560.

Chaparro JM, Badri D V, Vivanco JM. Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development. *ISME J. Nature Publishing Group*; 2014;8:790–803.

Chen ZJ, Tian YH, Zhang Y, Song BR, Li HC, Chen ZH. Effects of root organic exudates on rhizosphere microbes and nutrient removal in the constructed wetlands. *Ecol Eng. Elsevier B.V.*; 2016;92:243–250.

Coskun D, Britto DT, Shi W, Kronzucker HJ. How Plant Root Exudates Shape the Nitrogen Cycle. *Trends Plant Sci. Elsevier Ltd*; 2017;22:661–673.

Cotrufo MF, Soong JL, Horton AJ, Campbell EE, Haddix ML, Wall DH, Parton WJ. Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss. *Nat Geosci.* 2015;8:776–779.

Cunha NR da S, Lima JE de, Gomes MF de M, Braga MJ. A intensidade da exploração agropecuária como indicador da degradação ambiental na região dos Cerrados, Brasil. *Rev Econ e* 2008;46:291–323.

Da Silva JE, Resck DVS, Corazza EJ, Vivaldi L. Carbon storage in clayey Oxisol cultivated pastures in the “cerrado” region, Brazil. *Agric Ecosyst Environ.* 2004;103:357–363.

Da Silva VR, Reichert JM, Reinert DJ. Variação na temperatura do solo em três sistemas de manejo na cultura do feijão. *Rev Bras Cienc do Solo.* 2006;30:391–399.

Davinic M, Fultz LM, Acosta-Martinez V, Calderón FJ, Cox SB, Dowd SE, Allen VG, Zak JC, Moore-Kucera J. Pyrosequencing and mid-infrared spectroscopy reveal distinct aggregate stratification of soil bacterial communities and organic matter composition. *Soil Biol Biochem. Elsevier Ltd*; 2012;46:63–72.

de Andrade CAO, Borghi E, Bortolon L, Bortolon ESO, de Camargo FP, Avanzi JC, Simon J,

da Silva RR, Fidelis RR. Straw production and agronomic performance of soybean intercropped with forage species in no-tillage system. *Pesqui Agropecu Bras.* 2017;52:861–868.

Dexter A. Advances in Characterization of Soil Structure. *Soil Tillage Res.* 1988;11:199–238.

Dey R, Pal KK, Tilak KVBR. Influence of soil and plant types on diversity of rhizobacteria. *Proc Natl Acad Sci India Sect B - Biol Sci.* 2012;82:341–352.

Dufrêne M, Legendre P. Species Assemblages and Indicator Species : The Need for a Flexible Asymmetrical Approach. *Ecol Soc Am.* 1997;67:345–366.

Elliott ET. Aggregate Structure and Carbon, Nitrogen, and Phosphorus in Native and Cultivated Soils. *Soil Sci SocAmJ.* 1986;50:627–633.

Ferreira A de O, Amado T, Rice CW, Diaz DAR, Keller C, Inagaki TM. Can no-till grain production restore soil organic carbon to levels natural grass in a subtropical Oxisol? *Agric Ecosyst Environ.* Elsevier B.V.; 2016;229:13–20.

Fierer N, Brasford MA, Jackson RB. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology.* 2007;88:1354–1364.

Fierer N, Jackson RB. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:626–631.

Fierer N, Leff JW, Adams BJ, Nielsen UN, Bates ST, Lauber CL, Owens S, Gilbert JA, Wall DH, Caporaso JG. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes. *Proc Natl Acad Sci.* 2012;109:21390–21395.

Fontaine S, Mariotti A, Abbadie L. The priming effect of organic matter: A question of microbial competition? *Soil Biol Biochem.* 2003;35:837–843.

Franchini JC, Crispino CC, Souza RA, Torres E, Hungria M. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. *Soil Tillage Res.* 2007;92:18–29.

Fu H, Yu H, Li T, Zhang X. Influence of cadmium stress on root exudates of high cadmium accumulating rice line (*Oryza sativa* L.). *Ecotoxicol Environ Saf.* Elsevier Inc.; 2018;150:168–175.

Garland JL, Mills AL. Classification and characterisation of heterotrophic microbial communities on the basis of pattern of community-level sole-carbon-source utilization. *Appl Environ Microbiol.* 1991;57:2351–2359.

Girkin NT, Turner BL, Ostle N, Craigon J, Sjögersten S. Root exudate analogues accelerate CO₂ and CH₄ production in tropical peat. *Soil Biol Biochem.* Elsevier; 2018;117:48–55.

Grayston SJ, Griffith GS, Mawdsley JL, Campbell CD, Bardgett RD. Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biol Biochem.* 2001;33:533–551.

Gregory PJ. Roots, rhizosphere and soil: The route to a better understanding of soil science? *Eur J Soil Sci.* 2006;57:2–12.

Gupta VVSR, Germida JJ. Soil aggregation: Influence on microbial biomass and implications for biological processes. *Soil Biol Biochem.* Elsevier Ltd; 2015a;80:A3–A9.

Gupta VVSR, Germida JJ. Soil aggregation: Influence on microbial biomass and implications for biological processes. *Soil Biol Biochem.* Elsevier Ltd; 2015b;80:A3–A9.

Haichar F el Z, Santaella C, Heulin T, Achouak W. Root exudates mediated interactions belowground. *Soil Biol Biochem.* Elsevier Ltd; 2014;77:69–80.

Hartman K, van der Heijden MGA, Wittwer RA, Banerjee S, Walser J-C, Schlaeppi K. Cropping practices manipulate abundance patterns of root and soil microbiome members paving the way to smart farming. *Microbiome.* Microbiome; 2018;6:14.

Hirsch PR, Mauchline TH. The Importance of the Microbial N Cycle in Soil for Crop Plant Nutrition [Internet]. *Adv. Appl. Microbiol.* Elsevier Ltd; 2015.

Hobbs PR, Sayre K, Gupta R. The role of conservation agriculture in sustainable agriculture. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 2008;363:543–555.

Hungria M, Franchini JC, Brandão-Junior O, Kaschuk G, Souza RA. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. *Appl Soil Ecol.* 2009;42:288–296.

Iannucci A, Fragasso M, Beleggia R, Nigro F, Papa R. Evolution of the Crop Rhizosphere: Impact of Domestication on Root Exudates in Tetraploid Wheat (*Triticum turgidum* L.). *Front Plant Sci.* 2017;8.

James E. Nitrogen Fixation [Internet]. Second Edi. *Encycl. Appl. Plant Sci.* Elsevier; 2017.

Jesus EDC, Marsh TL, Tiedje JM, Moreira FMDS. Changes in land use alter the structure of bacterial communities in Western Amazon soils. *ISME J. Nature Publishing Group;* 2009;3:1004–1011.

Jin K, White PJ, Whalley WR, Shen J, Shi L. Shaping an Optimal Soil by Root–Soil Interaction. *Trends Plant Sci.* Elsevier Ltd; 2017;22:823–829.

Jones DL, Kemmitt SJ, Wright D, Cuttle SP, Bol R, Edwards AC. Rapid intrinsic rates of amino acid biodegradation in soils are unaffected by agricultural management strategy. *Soil Biol Biochem.* 2005;37:1267–1275.

Jones SE, Elliot MA. *Streptomyces* Exploration : Competition , Volatile Communication and New Bacterial Behaviours. *Trends Microbiol.* Elsevier Ltd; 2017;25:522–531.

Kader MA, Senge M, Mojid MA, Nakamura K. Mulching type-induced soil moisture and temperature regimes and water use efficiency of soybean under rain-fed condition in central Japan. *Int Soil Water Conserv Res.* Elsevier B.V.; 2017;5:302–308.

Karlen DL, Mausbach MJ, Doran JW, Cline RG, Harris RF, Schuman GE. Soil Quality: A Concept, Definition, and Framework for Evaluation (A Guest Editorial). *Soil Sci Soc Am J.* 1997;61:4.

Kemper W, Rosenau R. Aggregate Stability and Size Distribution. *Methods Soil Anal Part 1 - Phys Mineral Methods.* 1986;9:425–442.

- Kennedy AC. Bacterial diversity in agroecosystems. *Agric Ecosyst Environ.* 1999;74:65–76.
- Kiani M, Hernandez-Ramirez G, Quideau S, Smith E, Janzen H, Larney FJ, Puurveen D. Quantifying sensitive soil quality indicators across contrasting long-term land management systems: Crop rotations and nutrient regimes. *Agric Ecosyst Environ.* 2017;248:123–135.
- Kumar V, Rawat AK, Rao DLN. Population ecology of soybean-rhizobia in diverse crop rotations in Central India. *Agric Ecosyst Environ.* Elsevier B.V.; 2017;240:261–268.
- Kuzmicheva Y V., Shaposhnikov AI, Petrova SN, Makarova NM, Tychinskaya IL, Puhalsky J V., Parahin N V., Tikhonovich IA, Belimov AA. Variety specific relationships between effects of rhizobacteria on root exudation, growth and nutrient uptake of soybean. *Plant Soil.* Springer US; 2017;1–14.
- Kuzyakov Y, Blagodatskaya E. Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept & review. *Soil Biol Biochem.* Elsevier Ltd; 2015;83:184–199.
- Lammel DR, Nüsslein K, Tsai SM, Cerri CC. Land use, soil and litter chemistry drive bacterial community structures in samples of the rainforest and Cerrado (Brazilian Savannah) biomes in Southern Amazonia. *Eur J Soil Biol.* Elsevier Masson SAS; 2015;66:32–39.
- Langille MGI, Zaneveld J, Caporaso JG, McDonald D, Knights D, Reyes JA, Clemente JC, Burkepile DE, Vega Thurber RL, Knight R, Beiko RG, Huttenhower C. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat Biotechnol.* Nature Publishing Group; 2013;31:814–821.
- Larson WE, Pierce FJ. The dynamics of soil quality as a measurement of sustainable management. *Defin soil Qual a Sustain Environ.* 1994;551:37–51.
- Leigh MB, Fletcher JS, Fu X, Schmitz FJ. Root turnover: An important source of microbial substrates in rhizosphere remediation of recalcitrant contaminants. *Environ Sci Technol.* 2002;36:1579–1583.
- Li R, Khafipour E, Krause DO, Entz MH, de Kievit TR, Fernando WGD. Pyrosequencing Reveals the Influence of Organic and Conventional Farming Systems on Bacterial Communities. *PLoS One.* 2012;7.
- Li WC, Deng H, Wong MH. Effects of Fe plaque and organic acids on metal uptake by wetland plants under drained and waterlogged conditions. *Environ Pollut.* 2017;231:732–741.
- Loss A, Costa EM, Pereira MG, Beutler SJ. Agregação, matéria orgânica leve e carbono mineralizável em agregados do solo. *Rev la Fac Agron La Plata.* 2014;113:1–8.
- Lupwayi NZ, Arshad MA, Rice WA, Clayton GW. Bacterial diversity in water-stable aggregates of soils under conventional and zero tillage management. *Appl Soil Ecol.* 2001;16:251–261.
- Lynch JM, Whipps JM. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant Soil.* 1990;129:1–10.
- Marschner, H. Mineral nutrition of higher plants. San Diego: Academic Press, 1995. 889 p.
- McDaniel M, Tiemann L. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. *Ecological.* 2014;24:560–570.

McDaniel MD, Grandy AS. Soil microbial biomass and function are altered by 12 years of crop rotation. *SOIL Discuss.* 2016;1–39.

McDaniel MD, Grandy AS, Tiemann LK, Weintraub MN. Crop rotation complexity regulates the decomposition of high and low quality residues. *Soil Biol Biochem.* Elsevier Ltd; 2014;78:243–254.

Mendes LW, Kuramae EE, Navarrete AA, van Veen JA, Tsai SM. Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere. *ISME J.* 2014;8:1577–1587.

Mendes LW, Tsai SM, Navarrete AA, De Hollander M, Van Veen JA, Kuramae EE. Soil-Borne Microbiome: Linking Diversity to Function. *Microb Ecol.* 2015;255–265.

Merten GH, Araújo AG, Biscaia RCM, Barbosa GMC, Conte O. No-till surface runoff and soil losses in southern Brazil. *Soil Tillage Res.* Elsevier B.V.; 2015;152:85–93.

Oades JM. Soil organic matter and structural stability: mechanisms and implications for management. *Plant Soil.* 1984;76:319–337.

Pacheco LP, Pires FR, Monteiro FP, Procopio SO, Assis RL, Cargnelutti Filho a, Carmo ML, Petter F a. Soybean Crop Oversowing Used as a Technique to Suppress Weed Emergence. *Planta Daninha.* 2009;27:455–463.

Pagé AP, Yergeau É, Greer CW. *Salix purpurea* stimulates the expression of specific bacterial xenobiotic degradation genes in a soil contaminated with hydrocarbons. *PLoS One.* 2015;10:1–16.

Pérez-García A, Romero D, de Vicente A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: Biotechnological applications of Bacilli in agriculture. *Curr Opin Biotechnol.* 2011;22:187–193.

Perry DA, Amaranthus JG, Borchers JG, Borchers SL, Brainerd RE. Bootstrapping in Ecosystem. *Bioscience.* 1989;39:230–237.

Potysz A, Grybos M, Kierczak J, Guibaud G, Fondaneche P, Lens PNL, van Hullebusch ED. Metal mobilization from metallurgical wastes by soil organic acids. *Chemosphere.* Elsevier Ltd; 2017;178:197–211.

Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 2013;41:590–596.

Ramirez-Villanueva DA, Bello-López JM, Navarro-Noya YE, Luna-Guido M, Verhulst N, Govaerts B, Dendooven L. Bacterial community structure in maize residue amended soil with contrasting management practices. *Appl Soil Ecol.* Elsevier B.V.; 2015;90:49–59.

Ramirez KS, Lauber CL, Knight R, Bradford MA, Fierer N. Consistent effects of nitrogen fertilization on soil bacterial communities in contrasting systems. *Ecol Soc Am.* 2010;91:3463–3470.

Remenant B, Grundmann GL, Jocteur-Monrozier L. From the micro-scale to the habitat: Assessment of soil bacterial community structure as shown by soil structure directed sampling. *Soil Biol Biochem.* 2009;41:29–36.

Sá JC de M, Séguéy L, Tivet F, Lal R, Bouzinac S, Borszowski PR, Briedis C, Burkner J, Hartman C, Bertoloni CG, Rosa J. Carbon depletion by plowing and its restoration by No-Till cropping systems in Oxisols of subtropical and tropical agro-ecoregions in Brazil. *L Degrad Dev.* 2013;543:531–543.

Salvo LP Di, Ferrando L, Fernández-scavino A, Salamone IEG De. Microorganisms reveal what plants do not : wheat growth and rhizosphere microbial communities after *Azospirillum brasilense* inoculation and nitrogen fertilization under field conditions. *Plant Soil.* Springer; 2018;

Sasse J, Martinoia E, Northen T. Feed Your Friends: Do Plant Exudates Shape the Root Microbiome? *Trends Plant Sci.* Elsevier Ltd; 2018;23:25–41.

Schmidt H, Eickhorst T. Detection and quantification of native microbial populations on soil-grown rice roots by catalyzed reporter deposition- fluorescence in situ hybridization. *FEMS Microbiol Ecol.* 2013;87:390–402.

Schmidt MWI, Torn MS, Abiven S, Dittmar T, Guggenberger G, Janssens IA, Kleber M, Kögel-Knabner I, Lehmann J, Manning DAC, Nannipieri P, Rasse DP, Weiner S, Trumbore SE. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature.* 2011;478:49–56.

Silva AP, Babujia LC, Franchini JC, Souza RA, Hungria M. Microbial biomass under various soil- and crop-management systems in short- and long-term experiments in Brazil. *F Crop Res.* Elsevier B.V.; 2010;119:20–26.

Silva AP da, Babujia LC, Franchini JC, Ralisch R, Hungria M, Guimarães M de F. Soil structure and its influence on microbial biomass in different soil and crop management systems. *Soil Tillage Res.* 2014;142:42–53.

Six J, Bossuyt H, Degryze S, Denef K. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil Tillage Res.* 2004;79:7–31.

Six J, Elliott ET, Paustian K, Doran JW. Aggregation and Soil Organic Matter Accumulation in Cultivated and Native Grassland Soils. *Soil Sci Soc Am J.* 1998;62:1367.

Souza RC, Cantão ME, Vasconcelos ATR, Nogueira MA, Hungria M. Soil metagenomics reveals differences under conventional and no-tillage with crop rotation or succession. *Appl Soil Ecol.* Elsevier B.V.; 2013;72:49–61.

Suela Silva M, Naves Sales A, Teixeira Magalhães-Guedes K, Ribeiro Dias D, Schwan RF. Brazilian cerrado soil actinobacteria ecology. *Biomed Res Int.* 2013;2013.

Sugiyama A, Ueda Y, Zushi T, Takase H, Yazaki K. Changes in the bacterial community of soybean rhizospheres during growth in the field. *PLoS One.* 2014;9:1–9.

Tian J, Wang J, Dippold M, Gao Y, Blagodatskaya E, Kuzyakov Y. Biochar affects soil organic matter cycling and microbial functions but does not alter microbial community structure in a paddy soil. *Sci Total Environ.* Elsevier B.V.; 2016;556:89–97.

Tiritan CS, Büll LT, Crusciol CAC, Carneis Filho ACA, Fernandes DM, Nascente AS. Tillage system and lime application in a tropical region: Soil chemical fertility and corn yield in succession to degraded pastures. *Soil Tillage Res.* Elsevier B.V.; 2016;155:437–447.

- Tisdall JM, Oades JM. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *J soil Sci.* 1982a;33:141–163.
- Tisdall JM, Oades JM. Organic matter and water stable aggregates in soil. *Soil Sci.* 1982b;33:141–163.
- Trivedi P, Rochester IJ, Trivedi C, Van Nostrand JD, Zhou J, Karunaratne S, Anderson IC, Singh BK. Soil aggregate size mediates the impacts of cropping regimes on soil carbon and microbial communities. *Soil Biol Biochem.* Elsevier Ltd; 2015;91:169–181.
- Turner TR, Ramakrishnan K, Walshaw J, Heavens D, Alston M, Swarbreck D, Osbourn A, Grant A, Poole PS. Comparative metatranscriptomics reveals kingdom level changes in the rhizosphere microbiome of plants. *ISME J.* Nature Publishing Group; 2013;7:2248–2258.
- van Dam NM, Bouwmeester HJ. Metabolomics in the Rhizosphere: Tapping into Belowground Chemical Communication. *Trends Plant Sci.* Elsevier Ltd; 2016;21:256–265.
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol Biochem.* 1987;19:703–707.
- Vezzani FM, Anderson C, Meenken E, Gillespie R, Peterson M, Beare MH. The importance of plants to development and maintenance of soil structure , microbial communities and ecosystem functions. *Soil Tillage Res.* Elsevier; 2018;175:139–149.
- Vezzani FM, Mielniczuk J. Uma visão sobre qualidade do solo. *Rev Bras Cienc do Solo.* 2009;33:743–755.
- Vezzani FM, Mielniczuk J. Agregação e estoque de carbono em Argissolo. *Rev Bras Cienc do Solo.* 2011a;35:213–223.
- Vezzani FM, Mielniczuk J. Agregação e estoque de carbono em argissolo submetido a diferentes práticas de manejo agrícola. *Rev Bras Ciência do Solo.* 2011b;35:213–223.
- Vos M, Wolf AB, Jennings SJ, Kowalchuk GA. Micro-scale determinants of bacterial diversity in soil. *FEMS Microbiol Rev.* 2013;37:936–954.
- Wang Y, Ji H, Wang R, Guo S, Gao C. Impact of root diversity upon coupling between soil C and N accumulation and bacterial community dynamics and activity: Result of a 30 year rotation experiment. *Geoderma.* 2017;292:87–95.
- Ward NL, Challacombe JF, Janssen PH, Henrissat B, Coutinho PM, Wu M, Xie G, Haft DH, Sait M, Badger J, Barabote RD, Bradley B, Brettin TS, Brinkac LM, Bruce D, Creasy T, Daugherty SC, Davidsen TM, Deboy RT, Detter JC, Dodson RJ, Durkin AS, Ganapathy A, Gwinn-giglio M, Han CS, Khouri H, Kiss H, Kothari SP, Madupu R, Nelson KE, Nelson WC, Paulsen I, Penn K, Ren Q, Rosovitz MJ, Selengut JD, Shrivastava S, Sullivan SA, Tapia R, Thompson LS, Watkins KL, Yang Q, Yu C, Zafar N, Zhou L, Kuske CR. Three Genomes from the Phylum Acidobacteria Provide Insight into the Lifestyles of These Microorganisms in Soils. *Appl Environ Microbiol.* 2009;75:2046–2056.
- Weisskopf L, Heller S, Eberl L. Burkholderia species are major inhabitants of white lupin cluster roots. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77:7715–7720.
- Weisskopf L, Le Bayon RC, Kohler F, Page V, Jossi M, Gobat JM, Martinoia E, Aragno M. Spatio-temporal dynamics of bacterial communities associated with two plant species

differing in organic acid secretion: A one-year microcosm study on lupin and wheat. *Soil Biol Biochem.* 2008;40:1772–1780.

White PJ, George TS, Gregory PJ, Bengough AG, Hallett PD, Mckenzie BM. Matching roots to their environment. *Ann Bot.* 2013;112:207–222.

Winck BR, Vezzani FM, Dieckow J, Favaretto N, Molin R. Carbono e nitrogênio nas frações granulométricas da matéria orgânica do solo, em sistemas de culturas sob plantio direto. *Rev Bras Cienc do Solo.* 2014;38:980–989.

Yao H, He Z, Wilson M, Campbell C. Microbial Biomass and Community Structure in a Sequence of Soils with Increasing Fertility and Changing Land Use. *Microb Ecol.* 2000;40:223–237.

Zak D, Holmes W, White D, Peacock A, Tilman D. Plant Diversity, Soil Microbial Communities, and Ecosystem Function: Are There Any Links? *Ecology.* 2003;84:2042–2050.

Zak CJ, Willig RM ML, HG W. Functional Diversity of Microbial Communities: A Quantative Approach. *Soil Biol Biochem.* 1994;26:1101–1108.

Zilli JÉ, Rumjanek NG, Ribeiro Xavier G, da Costa Coutinho HL, Prata Neves MC. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. *Cad Cienc Tecnol.* 2003;20:391–411.

APÊNDICES

APÊNDICE 1. Atributos biológicos e índices de riqueza e de diversidade de gêneros de bactérias e arqueias do solo sob sistemas de cultura em sucessão e rotação, nos períodos de desenvolvimento do trigo em pré-colheita e soja em florescimento, na área experimental da Fundação ABC, Ponta Grossa - PR.

Culturas	Sistema de Culturas	Bloco	COTg dm ⁻³	NTµg g ⁻¹	CBMµg g ⁻¹	NBMµg g ⁻¹	C/N Microbiano	RM µg C-CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹	qCO ₂ µg C-CO ₂ µg Cmic ⁻¹ h ⁻¹	qMI C %	N min µg N g ⁻¹	Riqueza	Shannon	Simpson	Pielou
Trigo	Sucessão	1	26,12	1,87	146,62	25,07	5,85	13,35	0,09	0,56	5,80	44	2,98	0,90	1,08
	Sucessão	2	26,74	1,94	128,61	19,71	6,53	24,33	0,19	0,48	4,70	45	2,93	0,88	1,06
	Sucessão	3	28,19	2,07	128,01	23,80	5,38	17,98	0,14	0,45	7,90	45	3,04	0,90	1,10
	Sucessão	4	27,40	2,13	154,30	22,86	6,75	9,86	0,06	0,56	6,00	43	2,82	0,87	1,02
	Rotação	1	23,28	2,02	189,29	30,89	6,13	14,10	0,07	0,81	10,50	45	2,95	0,89	1,06
	Rotação	2	24,40	1,99	83,90	11,89	7,05	12,51	0,15	0,34	9,10	44	2,94	0,89	1,06
	Rotação	3	23,24	1,81	143,70	24,46	5,88	15,23	0,11	0,62	10,50	50	3,05	0,89	1,10
	Rotação	4	23,17	1,81	232,72	15,15	15,36	15,28	0,07	1,00	12,60	43	2,81	0,86	1,01
Soja	Sucessão	1	23,96	1,86	183,58	15,94	11,52	1,33	0,01	0,77	2,93	37	2,63	0,85	0,95
	Sucessão	2	25,35	1,88	162,07	18,15	8,93	2,17	0,01	0,64	3,26	34	2,52	0,84	0,91
	Sucessão	3	22,21	1,74	211,93	21,08	10,06	3,37	0,02	0,95	1,50	38	2,78	0,87	1,00
	Sucessão	4	20,53	1,58	180,44	10,19	17,70	3,88	0,02	0,88	4,96	33	2,62	0,85	0,95
	Rotação	1	27,77	2,30	194,24	16,18	12,01	3,53	0,02	0,70	2,80	39	2,50	0,81	0,9
	Rotação	2	25,52	2,01	151,32	33,59	4,50	0,57	0,00	0,59	2,57	34	2,64	0,85	0,95
	Rotação	3	23,75	1,90	158,15	12,65	12,51	0,32	0,00	0,67	1,60	37	2,62	0,84	0,95
	Rotação	4	21,52	1,82	192,48	26,36	7,30	3,19	0,01	0,89	2,09	37	2,58	0,83	0,93

COT – carbono orgânico total; NT – nitrogênio total; CBM – carbono da biomassa microbiana; NBM – nitrogênio da biomassa microbiana; RM – respiração microbiana; qCO₂ – quociente metabólico; qMIC – quociente microbiano; N min – nitrogênio mineralizado

APÊNDICE 2. Desenvolvimento médio de cor (AWCD); diversidade metabólica; e intensidade de utilização da fonte de carbono (absorbância) pela comunidade microbiana do solo sob sistemas de cultura em sucessão e rotação, nos períodos de desenvolvimento do trigo em pré-colheita e soja em florescimento, na área experimental da Fundação ABC, Ponta Grossa - PR.

Culturas	Sistema de Culturas	BlocoAminoácidos.....			Carboidratos.....			Ácidos orgânicos.....				H'
			Alanina	Arginina	Arabiose	Frutose	Galactose	Glicose	Ácido Málico	Ácido Cítrico	Ácido Oxálico	Ácido cetaglutárico	Ácido Tartárico	AWCD Total	
Trigo	Sucessão	1	0,38*	1,04	0,00	1,14	0,79	0,03	1,35	1,30	0,18	2,33	1,05	0,87	2,05
	Sucessão	2	0,24	0,63	0,00	1,23	0,90	0,11	1,50	1,49	0,18	2,33	1,05	0,88	2,03
	Sucessão	3	0,75	0,72	0,08	0,75	0,73	0,10	1,33	1,17	0,48	1,56	0,79	0,77	2,05
	Sucessão	4	0,34	0,69	0,02	1,34	0,77	0,51	1,42	1,52	0,20	2,10	1,03	0,90	2,14
Trigo	Rotação	1	0,72	1,30	0,01	1,35	0,80	0,36	1,54	1,32	0,29	2,58	0,93	1,02	2,14
	Rotação	2	0,43	0,80	0,00	1,15	0,82	0,00	1,43	1,16	0,16	2,58	0,93	0,86	2,01
	Rotação	3	0,46	1,05	0,10	1,26	0,87	0,56	1,65	1,52	0,48	1,62	1,03	0,96	2,24
	Rotação	4	0,52	0,91	0,06	1,14	0,68	0,62	1,23	1,33	0,20	1,75	0,79	0,84	2,20
Soja	Sucessão	1	1,05	0,98	0,44	0,35	0,63	1,16	1,38	1,39	0,42	1,54	0,81	0,92	2,29
	Sucessão	2	0,79	0,74	0,00	1,09	0,99	0,00	1,23	1,47	0,53	1,26	0,71	0,80	2,15
	Sucessão	3	0,73	0,43	0,00	0,61	0,60	0,00	1,25	1,18	0,51	1,48	0,79	0,69	2,11
	Sucessão	4	0,82	0,50	0,05	0,38	0,70	0,00	1,21	1,19	0,66	1,28	0,74	0,68	2,15
Soja	Rotação	1	1,09	0,88	0,16	0,80	1,00	0,00	1,51	0,77	0,65	1,42	0,90	0,83	2,21
	Rotação	2	0,68	0,65	0,00	0,88	0,83	0,00	1,41	1,37	0,57	1,34	0,58	0,75	2,13
	Rotação	3	0,68	0,41	0,00	0,26	0,36	0,00	0,96	0,79	0,74	1,24	0,69	0,56	2,10
	Rotação	4	0,78	0,61	0,13	0,47	0,74	0,00	1,15	1,16	0,98	1,17	1,03	0,75	2,21

AWCD (sigla em inglês, average well color development) – desenvolvimento médio de cor; H' – diversidade de Shannon.

APÊNDICE 3. Atributos químicos do solo sob sistemas de cultura em sucessão e rotação, nos períodos de desenvolvimento do trigo em pré-colheita e soja em florescimento, na área experimental da Fundação ABC, Ponta Grossa - PR.

Culturas	Sistema de Culturas	Bloco	pH (CaCl ₂)	Al	Al+H	Ca	Mg	P	K	Cu	Mn	Fe	Zn
			cmolc dm ⁻³mg dm ⁻³				
Trigo	Sucessão	1	4,7	0,1	6,7	2,8	1,7	18,7	98,0	0,6	9,6	45,5	0,6
	Sucessão	2	4,7	0,1	7,2	2,9	2,0	24,6	89,0	0,6	9,4	46,9	3,2
	Sucessão	3	4,6	0,1	7,2	2,9	1,6	53,7	89,0	0,2	11,7	46,7	0,9
	Sucessão	4	4,5	0,2	7,8	4,3	2,4	37,8	71,0	0,6	8,4	47,0	0,8
	Rotação	1	4,5	0,2	7,2	2,4	1,2	14,8	97,0	0,7	9,7	48,8	6,9
	Rotação	2	4,7	0,1	6,7	2,7	1,7	23,3	144,0	0,5	12,6	45,4	10,1
	Rotação	3	4,6	0,1	7,2	2,6	1,5	26,7	114,0	0,4	11,2	51,7	7,9
	Rotação	4	4,2	0,4	8,4	1,6	0,9	14,8	99,0	0,5	8,9	48,0	7,5
Soja	Sucessão	1	4,1	0,7	9,9	1,8	1,0	21,7	36,0	0,5	9,7	51,4	4,2
	Sucessão	2	4,3	0,8	13,9	4,0	1,3	11,4	74,0	1,3	10,6	77,0	4,8
	Sucessão	3	4,5	0,2	7,8	7,9	2,6	46,1	119,5	1,1	10,8	54,4	2,9
	Sucessão	4	4,2	0,3	8,1	0,2	0,4	27,6	104,5	1,2	9,6	63,7	0,6
	Rotação	1	4,1	0,5	10,5	1,9	0,9	17,2	57,0	0,9	10,5	54,2	11,0
	Rotação	2	4,5	0,2	8,1	1,1	1,0	17,3	209,5	1,3	8,1	49,8	5,0
	Rotação	3	4,4	0,2	7,8	4,0	3,0	30,8	117,5	1,3	6,7	60,7	7,4
	Rotação	4	4,1	0,7	9,4	3,1	1,9	41,4	120,5	1,4	4,8	63,1	8,5

Al – Alumínio; Al+H – Alumínio mais hidrogênio; Ca – Cálcio; Mg – Magnésio; P – Fósforo; K – Potássio; Cu – Cobre; Mn – Manganês; Fe – Ferro; Zn – Zinco.

APÊNDICE 4. Atributos biológicos do solo sob cobertura de *Panicum maximum* cv. Mombaça e *Pennisetum americanum* cv. ADR 300 (milheto) e calagem, na profundidade de 5 a 20 cm, no período de florescimento da soja na área experimental da Universidade Federal do Tocantins, campus Gurupi-TO.

Planta de Cobertura	Calagem	Bloco	COT g dm ⁻³	NT	CBM µg g ⁻¹	NBM µg g ⁻¹	C/N Microbiano	RM µg C-CO ₂ g ⁻¹ h ⁻¹	qCO ₂ µg Cmic ⁻¹ h ⁻¹	qMIC %	N min µg N g ⁻¹
<i>P. americanum</i>	Sem calário	1	18,13	1,48	95,73	9,87	9,70	0,89	0,01	5,28	2,06
<i>P. americanum</i>	Sem calário	2	17,53	1,45	81,94	12,99	6,31	2,57	0,07	2,04	2,22
<i>P. americanum</i>	Sem calário	3	18,02	1,44	56,90	14,56	3,91	1,31	0,02	3,16	2,21
<i>P. americanum</i>	Sem calário	4	17,89	1,93	93,20	14,55	6,40	3,15	0,03	3,58	1,74
<i>P. americanum</i>	Com calcário	1	17,54	1,65	67,28	18,70	3,60	4,19	0,06	3,18	1,52
<i>P. americanum</i>	Com calcário	2	16,94	1,45	75,75	17,00	4,45	5,00	0,13	2,34	1,98
<i>P. americanum</i>	Com calcário	3	18,01	1,51	63,40	15,31	4,14	3,00	0,05	3,52	1,96
<i>P. americanum</i>	Com calcário	4	17,66	1,48	96,58	17,00	5,68	0,89	0,01	5,47	2,10
<i>P. maximum</i>	Sem calário	1	17,97	1,48	80,53	12,49	6,45	1,76	0,03	3,30	1,53
<i>P. maximum</i>	Sem calário	2	16,44	1,35	84,93	18,54	4,58	1,74	0,02	5,17	1,97
<i>P. maximum</i>	Sem calário	3	18,08	1,68	78,57	17,64	4,45	1,94	0,02	4,35	1,16
<i>P. maximum</i>	Sem calário	4	17,47	1,47	78,08	16,22	4,81	2,32	0,03	4,47	1,81
<i>P. maximum</i>	Com calcário	1	18,04	1,60	87,77	16,62	5,28	3,87	0,04	4,87	1,73
<i>P. maximum</i>	Com calcário	2	17,33	1,52	71,65	24,96	2,87	3,00	0,04	4,13	1,81
<i>P. maximum</i>	Com calcário	3	18,78	1,56	90,83	35,08	2,59	4,00	0,04	4,84	1,88
<i>P. maximum</i>	Com calcário	4	18,67	1,71	83,42	23,19	3,60	4,50	0,13	1,81	2,22

COT – carbono orgânico total; NT – nitrogênio total; CBM – carbono da biomassa microbiana; NBM – nitrogênio da biomassa microbiana; RM – respiração microbiana; qCO₂ – quociente metabólico; qMIC – quociente microbiano; N min – nitrogênio mineralizado

APÊNDICE 5. Atributos de raiz; proporção de agregados de solo estáveis em água por classe de tamanho e diâmetro médio ponderado obtido via úmida (DMPu); e índices de riqueza e diversidade de gêneros de bactérias e arqueias do solo sob cobertura de *Panicum maximum* cv. Mombaca e *Pennisetum americanum* cv. ADR 300 (milheto) e calagem, na profundidade de 5 a 20 cm, no período de florescimento da soja na área experimental da Universidade Federal do Tocantins, campus Gurupi-TO.

Planta de Cobertura	Calagem	Bloco	Vol cm ³	AS cm ²	CER m g ⁻¹	Riqueza	Índices.....			Classe de tamanho (mm)					DMP u
							Shannon	Simpson	Pielou	8 a 2	2 a 0,250	0,250 a 0,053	<0,053	mm	
<i>P. americanum</i>	Sem calário	1	0,38	60,32	81,70	40,00	2,78	0,88	1,00	34,17	55,56	8,60	1,66	1,66	1,66
<i>P. americanum</i>	Sem calário	2	0,29	54,86	72,72	36,00	2,70	0,87	0,97	30,54	31,08	36,72	1,66	1,32	1,32
<i>P. americanum</i>	Sem calário	3	0,22	40,14	36,85	27,00	2,32	0,81	0,84	18,10	69,19	10,84	1,87	1,34	1,34
<i>P. americanum</i>	Sem calário	4	0,31	60,99	37,50	35,00	2,60	0,85	0,94	36,20	51,67	9,86	2,27	1,68	1,68
<i>P. americanum</i>	Com calcário	1	0,50	84,47	72,18	30,00	2,49	0,85	0,90	22,12	63,79	12,69	1,40	1,40	1,40
<i>P. americanum</i>	Com calcário	2	0,58	111,03	75,38	28,00	2,56	0,86	0,92	37,18	51,91	9,77	1,14	1,71	1,71
<i>P. americanum</i>	Com calcário	3	0,51	94,15	147,33	27,00	2,52	0,86	0,91	44,38	46,35	7,22	2,06	1,86	1,86
<i>P. americanum</i>	Com calcário	4	0,35	64,14	50,66	33,00	2,66	0,87	0,96	35,62	51,54	10,95	1,90	1,67	1,67
<i>P. maximum</i>	Sem calário	1	0,63	104,72	50,77	30,00	2,49	0,85	0,90	29,55	55,83	12,13	2,49	1,53	1,53
<i>P. maximum</i>	Sem calário	2	0,56	101,15	57,22	26,00	2,38	0,82	0,86	22,10	63,92	11,25	2,73	1,40	1,40
<i>P. maximum</i>	Sem calário	3	0,24	46,91	98,32	32,00	2,57	0,85	0,93	26,75	60,18	11,29	1,78	1,50	1,50
<i>P. maximum</i>	Sem calário	4	0,61	107,16	78,82	31,00	2,57	0,85	0,93	41,67	40,96	9,49	7,88	1,73	1,73
<i>P. maximum</i>	Com calcário	1	0,96	162,98	70,79	37,00	2,65	0,86	0,96	11,95	73,86	12,63	1,56	1,21	1,21
<i>P. maximum</i>	Com calcário	2	0,44	57,91	82,38	43,00	2,73	0,86	0,98	31,67	56,64	10,13	1,57	1,60	1,60
<i>P. maximum</i>	Com calcário	3	1,00	179,67	69,47	31,00	2,51	0,83	0,91	38,11	51,25	9,33	1,30	1,73	1,73
<i>P. maximum</i>	Com calcário	4	0,26	50,04	108,16	36,00	2,61	0,85	0,94	34,16	55,94	10,58	-0,68	1,67	1,67

Vol – volume de raízes; AS – área de superfície; CER

APÊNDICE 6. Desenvolvimento médio de cor (AWCD); diversidade metabólica; e intensidade de utilização da fonte de carbono (absorbância) pela comunidade microbiana do solo sob cobertura de *Panicum maximum* cv. Mombaça e *Pennisetum americanum* cv. ADR 300 (milheto) e calagem, na profundidade de 5 a 20 cm, no período de florescimento da soja na área experimental da Universidade Federal do Tocantins, campus Gurupi-TO.

Planta de cobertura	Calagem	BlocoAminoácidos.....		Carboitrato.....				Ácidos orgânicos.....					AWCD	
			Alanina	Arginina	Arabiose	Frutose	Galactose	Glicose	Ácido Málico	Ácido Cítrico	Ácido Oxálico	Ácido cetaglutárico	Ácido Tartárico	Total	H'		
<i>P. americanum</i>	Sem calário	1	0,30	0,28	0,00	0,13	0,10	0,24	1,14	1,38	0,48	1,00	0,44	0,50	1,96		
<i>P. americanum</i>	Sem calário	2	0,21	0,09	0,15	0,01	0,14	0,38	1,33	0,90	0,29	1,19	0,75	0,50	1,88		
<i>P. americanum</i>	Sem calário	3	0,58	0,27	0,08	0,00	0,01	0,13	1,36	0,68	0,23	1,08	0,21	0,42	1,70		
<i>P. americanum</i>	Sem calário	4	0,01	0,11	0,00	0,00	0,12	0,38	1,59	0,74	0,44	1,73	0,38	0,50	1,73		
<i>P. americanum</i>	Com calcário	1	0,10	0,31	0,11	0,09	0,25	0,45	1,46	0,09	0,49	1,27	0,15	0,43	1,83		
<i>P. americanum</i>	Com calcário	2	0,46	0,56	0,00	0,28	0,03	0,00	1,40	2,25	0,00	1,20	0,72	0,63	1,69		
<i>P. americanum</i>	Com calcário	3	0,06	0,06	0,01	0,00	0,05	0,06	1,19	0,42	0,43	0,73	0,15	0,29	1,68		
<i>P. americanum</i>	Com calcário	4	0,32	0,30	0,08	0,00	0,16	0,07	1,54	1,34	0,32	1,17	0,20	0,50	1,72		
<i>P. maximum</i>	Sem calário	1	0,00	0,29	0,00	0,00	0,07	0,01	1,03	0,99	0,31	1,45	0,51	0,42	1,58		
<i>P. maximum</i>	Sem calário	2	0,96	1,38	0,42	0,87	0,00	0,00	2,18	2,30	0,16	2,01	0,61	0,99	1,92		
<i>P. maximum</i>	Sem calário	3	0,25	0,03	0,00	0,00	0,05	0,27	1,58	1,79	0,19	1,17	0,54	0,53	1,70		
<i>P. maximum</i>	Sem calário	4	0,30	0,05	0,12	0,00	0,11	0,20	1,20	0,59	0,19	1,15	0,28	0,38	1,77		
<i>P. maximum</i>	Com calcário	1	0,35	0,89	0,01	0,05	0,12	0,02	2,22	2,32	0,34	1,21	0,71	0,75	1,81		
<i>P. maximum</i>	Com calcário	2	0,50	0,00	0,01	0,09	0,00	0,00	1,81	0,60	0,00	1,82	0,00	0,44	1,18		
<i>P. maximum</i>	Com calcário	3	0,24	0,12	0,00	0,00	0,06	0,15	1,96	1,67	0,30	1,57	0,27	0,58	1,62		
<i>P. maximum</i>	Com calcário	4	0,26	0,15	0,04	0,06	0,24	0,08	1,61	0,73	0,29	0,94	0,16	0,42	1,64		

AWCD (sigla em inglês, average well color development) – desenvolvimento médio de cor; H' – diversidade de Shannon.

APÊNDICE 7. Atributos químicos do solo sob cobertura de *Panicum maximum* cv. Mombaça e *Pennisetum americanum* cv. ADR 300 (milheto) e calagem, na profundidade de 5 a 20 cm, no período de florescimento da soja na área experimental da Universidade Federal do Tocantins, campus Gurupi-TO.

Planta de Cobertura	Calagem	Bloco	pH	pH	Al	Al+H	Ca	Mg	P	K	Cu	Mn	Fe	Zn
			(CaCl ₂)	SMP										
<i>P. americanum</i>	Sem calário	1	3,96	5,65	0,55	6,20	0,40	0,10	5,40	32,00	0,20	5,30	56,30	0,10
<i>P. americanum</i>	Sem calário	2	3,88	5,62	0,76	6,70	0,20	0,00	3,90	17,00	1,90	0,90	54,40	4,60
<i>P. americanum</i>	Sem calário	3	4,09	5,62	0,40	6,70	0,60	0,10	35,70	24,00	0,93	16,30	47,30	16,60
<i>P. americanum</i>	Sem calário	4	4,33	5,55	0,23	6,70	1,90	0,30	33,80	29,00	0,70	20,00	48,30	14,40
<i>P. americanum</i>	Com calcário	1	4,46	5,81	0,10	5,80	1,40	0,60	0,40	82,00	0,30	9,80	47,50	1,50
<i>P. americanum</i>	Com calcário	2	4,56	6,00	0,10	5,00	1,60	0,50	7,75	31,00	0,40	5,90	36,40	5,70
<i>P. americanum</i>	Com calcário	3	4,59	6,04	0,08	5,00	1,90	0,60	9,50	27,00	0,40	7,90	46,10	9,10
<i>P. americanum</i>	Com calcário	4	4,51	5,68	0,09	6,20	1,60	0,60	1,40	31,00	0,10	10,30	48,10	0,70
<i>P. maximum</i>	Sem calário	1	3,97	5,66	0,51	6,20	0,30	0,20	4,70	46,00	0,20	7,20	55,00	1,80
<i>P. maximum</i>	Sem calário	2	3,94	5,63	0,49	6,20	0,10	0,00	7,70	37,00	0,50	4,30	59,50	0,40
<i>P. maximum</i>	Sem calário	3	4,02	5,75	0,37	5,80	0,40	0,10	8,10	38,00	1,70	5,70	49,40	5,50
<i>P. maximum</i>	Sem calário	4	4,03	5,54	0,44	7,20	0,60	0,20	3,90	35,00	0,20	5,80	57,10	2,10
<i>P. maximum</i>	Com calcário	1	4,52	5,84	0,09	5,80	1,50	0,60	1,90	48,00	0,90	14,50	41,90	11,00
<i>P. maximum</i>	Com calcário	2	5,12	6,44	0,02	3,70	2,00	1,10	1,60	40,00	0,40	9,00	38,80	1,40
<i>P. maximum</i>	Com calcário	3	4,40	6,05	0,09	4,60	1,10	0,40	8,10	42,00	0,30	4,90	35,80	2,40
<i>P. maximum</i>	Com calcário	4	4,79	6,08	0,10	4,60	1,80	0,90	1,40	20,00	0,00	6,00	33,50	0,80

APÊNDICE 8. Script das análise estatísticas realizadas no ambiente R

PERMANOVA	IndVal	Correlação de Pearson
library(vegan)	library(labdsv)	da <- read.table ("cogenero.txt", header =
da <- read.table ("generoPRho1.txt", header = TRUE)	ind1 <- read.table("filoPRho1ind.txt",	TRUE)
da <- da [,1]	header=T)	co <-cor (da, method = c("pearson"))
#Transformação logarítmica	grupo <- ind1[,1]	co
da.log <- log(da+1)	grupo	#write.table(co, "cogenero.txt")
#Normalização dos dados	sp <- ind1[,1]	summary (co)
da.ja <-vegdist(da, method = "jaccard")	sp	#teste de significancia entre o pH e o N
read.table("fatoresmet.txt", header = TRUE)->fatores	resultado <- indval(sp,grupo)	min
Sistema <- fatores[,1]	resultado	col <-cor.test(~ Ph + Nmin, method =
Epoca <- fatores[,2]	summary(resultado)	c("pearson"), data = da)
adonis(da.ja ~ Sistema*Epoca, permutations=999)		col

Continuação do APÊNDICE 8....

Índices de Riqueza e diversidade*	Delineamento de blocos em parcelas subdivididas
## Diversidade	da <- read.table("dadosPRho1.txt", h=T)
library(vegan)	str(da)
da <- read.table ("generoPRho1.txt", header = TRUE)	summary(da)
da <- da[, -1]	##A - Parcela e B Subparcela
shannon <-diversity(da, index = "shannon")	m0 <- lm(Total~Bloco+A*(Bloco+B), data=da)
simpson <-diversity(da, index = "simpson")	coef(m0)
invsimpson <- diversity(da, index = "invsimpson")	# Verificação dos pressupostos.
#Riqueza	par(mfrow = c(2, 2))
riqueza <-specnumber(da)	plot(m0)
pielou <- shannon/log(length(riqueza))	layout(1)
diversidade <-cbind(riqueza, shannon, simpson,	library(MASS)
invsimpson,pielou)	MASS::boxcox(m0)
diversidade	shapiro.test(m0\$res)
	library (ExpDes.pt)
	with(da, psub2.dbc(A, B, Bloco,aa, quali = c(TRUE, TRUE), mcomp =
	"tukey", fac.names = c("F1", "F2"), sigT = 0.05, sigF = 0.05))
	#aa é o atributo analisado

* Os índices de riqueza e diversidade foram calculados conforme o script acima e posteriormente foi realizada a ANOVA. Os dados utilizados para o cálculo dos índices foi a porcentagem da abundancia relativa dos gêneros de bactérias e arqueias.